REC'D 14 JAN 2005

POT



Europäisches Patentamt

European **Patent Office** Office européen des brevets

Bescheinigung

Certificate

WIPO Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application conformes à la version described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr.

Patent application No. Demande de brevet no

03090325.6

PRIORITY

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

> Der Präsident des Europäischen Patentamts; Im Auftrag

For the President of the European Patent Offic

Le Président de l'Office européen des brevets p.o.

R C van Dijk



Anmeldung Nr:

Application no.:

03090325.6

Demande no:

Anmeldetag:

Date of filing: 30.09.03

Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Bayer CropScience GmbH Brüningstrasse 50 65929 Frankfurt/Main ALLEMAGNE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention: (Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung. If no title is shown please refer to the description. Si aucun titre n'est indiqué se referer à la description.)

Pflanzen mit verringerter Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3

In Anspruch genommene Prioriät(en) / Priority(ies) claimed /Priorité(s) revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/Classification internationale des brevets:

A01H/

Am Anmeldetag benannte Vertragstaaten/Contracting states designated at date of filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR LI

3 0 -09- 2003

BCS 03-5004

Bayer CropScience GmbH

Pflanzen mit verringerter Aktivität eines Verzweigungsenzyms der Klasse 3

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft Pflanzenzellen und Pflanzen, die genetisch modifizier sind, wobei die genetische Modifikation zur Verringerung der Aktivität eines pflanzlicher Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den erfindungsgemäßer Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von Stärkederivaten dieser Stärke. Weiterhir betrifft die vorliegende Erfindung Nucleinsäuren, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, Vektoren, Wirtszellen, Pflanzenzellen und Pflanzen enthaltend solche Nucleinsäuremoleküle.

Im Hinblick auf die zunehmende Bedeutung, die pflanzlichen Inhaltsstoffen als erneuerbaren Rohstoffquellen zur Zeit beigemessen wird, ist es eine der Aufgaben der biotechnologischen Forschung, sich um eine Anpassung dieser pflanzlichen Rohstoffe an die Anforderungen der verarbeitenden Industrie zu bemühen. Um eine Anwendung von nachwachsenden Rohstoffen in möglichst vielen Einsatzgebieten zu ermöglichen ist es darüber hinaus erforderlich, eine große Stoffvielfalt zu erreichen.

Das Polysaccharid Stärke ist aus chemisch einheitlichen Grundbausteinen, der Glucosemolekülen, aufgebaut, stellt jedoch ein komplexes Gemisch unterschiedliche

20

25

5

Molekülformen dar, die Unterschiede hinsichtlich des Polymerisations- und des Verzweigungsgrades aufweisen und sich somit in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften stark voneinander Man differenziert unterscheiden. zwischen Amylosestärke, einem im wesentlichen unverzweigten Polymer aus α -1,4-glycosidisch verknüpften Glucoseeinheiten, und der Amylopektinstärke, einem verzweigten Polymer. bei dem die Verzweigungen durch das Auftreten zusätzlicher α-1,6-glycosidischer Verknüpfungen zustande kommen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied zwischen Amylose und Amylopektin liegt im Molekulargewicht. Während Amylose, je nach Herkunft der Stärke, ein Molekulargewicht von 5x10⁵ – 10⁶ Da besitzt, liegt das des Amylopektins zwischen 10⁷ und 10⁸ Da. Die beiden Makromoleküle können durch ihr Molekulargewicht und ihre unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften differenziert werden. was am einfachsten durch ihre unterschiedlichen Jodbindungseigenschaften sichtbar gemacht werden kann.

Amylose wurde lange als lineares Polymer, bestehend aus α -1,4-glycosidisch verknüpften α -D-Glucose-Monomeren, angesehen. In neueren Studien wurde jedoch die Anwesenheit von α -1,6-glycosidischen Verzweigungspunkten (ca. 0,1%) nachgewiesen (Hizukuri und Takagi, Carbohydr. Res. 134, (1984), 1-10; Takeda et al., Carbohydr. Res. 132, (1984), 83-92).

20

25

30

5

10

Das Amylopektin stellt ein komplexes Gemisch aus unterschiedlich verzweigten Glucoseketten dar. Im Gegensatz zur Amylose ist das Amylopektin stärker verzweigt. Nach Lehrbuchangaben (Voet and Voet, Biochemistry, John Wiley & Sons, 1990) treten die α-1,6-Verzweigungen durchschnittlich alle 24 bis 30 Glucosereste auf. Dies entspricht einem Verzweigungsgrad von ca. 3% - 4%. Die Angaben zum Verzweigungsgrad sind variabel und abhängig von der Herkunft (z.B. Pflanzenspezies, Pflanzensorte usw.) der jeweiligen Stärke. In typischen für die industrielle Stärkeproduktion verwendeten Pflanzen, wie z.B. Mais, Weizen oder Kartoffel, besteh die synthetisierte Stärke zu ca. 20% - 30% aus Amylose-Stärke und zu ca. 70% - 80% aus Amylopektin-Stärke.

Die funktionellen Eigenschaften der Stärke werden neben dem Amylose/Amylopektin-Verhältnis und dem Phosphatgehalt stark beeinflußt durch das Molekulargewicht, das Muster der Seitenkettenverteilung, den Gehalt an Ionen, den Lipid- und Proteingehalt, die mittlere Stärkekorngröße sowie die Stärkekornmorphologie etc. Als wichtige funktionelle Eigenschaften sind hierbei beispielsweise zu nennen die Löslichkeit, das Retrogradationsverhalten, das Wasserbindevermögen, die Filmbildungseigenschaften, die Viskosität, die Verkleisterungseigenschaften, die Gefrier-Tau-Stabilität, die Säurestabilität, die Gelfestigkeit etc.. Auch die Stärkekorngröße kann für verschiedene Anwendungen von Bedeutung sein.

10

15

20

5

Verzweigungsenzyme, die auch mit der Bezeichnung "BE" (von Branching Enzyme; E.C. 2.4.1.18) abgekürzt werden, katalysieren die Einführung von α -1,6-Verzweigungen in α-1,4-Glukane. Verzweigungsenzyme und die sie codierenden Nuclein- bzw. Aminosäuresequenzen sind aus unterschiedlichsten Organismen, wie z.B. Bakterien, mikrobiellen Pilzen, Säugetieren, Algen und höheren Pflanzen bekannt. Da nur synthetisieren, während die vorgenannten Pflanzen Stärke nicht-pflanzlichen Organismen (z.B. Bakterien, Pilze und Säugetiere) Glycogen synthetisieren, können die betreffenden Verzweigungsenzyme, die an der Synthese des jeweiligen Polymers beteiligt sind. auch in Glycogen-Verzweigungsenzyme Stärke-Verzweigungsenzyme unterteilt werden. Bei den Pflanzen handelt es sich daher um Stärke-Verzweigungsenzyme, die insbesondere in älterer Literatur häufig auch als Q-Enzyme bezeichnet werden.

In allen Pflanzenspezies, die bisher untersucht wurden, können die beschriebenen Verzweigungsenzyme zwei unterschiedlichen Klassen zugeordnet werden (Burton et al., 1995, Plant Journal 7, 3-15; Mizuno et al., 2001, Plant Cell Physiol. 42(4), 349-357). Die Zuordnung zu diesen Klassen, teilweise in der Literatur mit A bzw. 2, und B bzw. 1 bezeichnet, beruht auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen.

30 Da in der Vergangenheit unterschiedliche Nomenklaturen zur Bezeichnung und Klassifizierung von Verzweigungsenzymen verwendet wurden, haben Smith-White und

Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) zur Vereinheitlichung dieser Nomenklatur ein System vorgeschlagen, in welchem die Zuordnung zu den beiden Klassen von pflanzlichen Verzweigungsenzymen auch auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen beruht (Larsson et al., 1998, Plant Mol. Biol. 37, 505-511). Diejenigen pflanzlichen Verzweigungsenzyme, deren Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) aufweisen, sollen nach dieser Nomenklatur Verzweigungsenzym der Klasse 1 bezeichnet werden und diejenigen pflanzlichen Verzweigungsenzyme, deren sie codierende Aminosäureseguenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms II aus Mais (GenBank Acc: AF072725) aufweisen, sollen als Verzweigungsenzym der Klasse 2 bezeichnet werden. Die Bezeichnung der Genprodukte codierend für Verzweigungsenzyme soll nach der Nomenklatur von Smith-White und Preiss als Erweiterung in die bereits bestehende Nomenklatur mittels E.C. Nummern aufgenommen werden. Für die beiden Klassen ergeben sich somit sogenannte GPN (Gen Produkt Nummer) Codes und zwar GPN 2.2.4.1.18:1 für Verzweigungsenzyme der Klasse 1 und GPN 2.2.4.18:2 für Verzweigungsenzyme der Klasse 2.

5

10

15

20

25

Die folgenden pflanzlichen- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören daher, nach der von Smith-White und Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 1 (GPN 2.2.1.18:1):

BE I aus Aegilops tauschii (GenBank Acc: AF525746), BE I aus Gerste (GenBank Acc: AY304541), BE aus Tapioka (GenBank Acc: X77012), BE I (häufig auch als BE 1 bezeichnet) aus Reis (GenBank Acc: D11082, D10752, D10838), BE 3 aus Bohne (GenBank Acc: AB029549), BE II aus Erbse (GenBank Acc: X80010), BE aus Hirse (GenBank Acc: AF169833), BE I aus Kartoffel (GenBank Acc: Y08786, X69805), BE aus Weizen (GenBank Acc: Y12320, AF076679, AF002820) und BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081, AAO20100, E03435, AY176762, U17897, AF072724).

Dabei weisen die für verschiedene Verzweigungsenzyme der Klasse 1 codierenden Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

Verzweigungsenzyme, die nach der von Smith-White and Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 2 (GPN 2.2.1.18:2) gehören, sind z.B. BE lla aus Aegilops tauschii (GenBank Acc: AF338431. WO 9914314), BE2-1 und BE2-2 aus Arabidosis thaliana (BE2-1 GenBank Acc: 5 NM_129196 CAA04134; BE2-2 GenBank Acc: CAB82930, NM_120446), BE IIa und BE Ilb aus Gerste (BE Ila GenBank Acc: AF064560; BE Ilb GenBank Acc: AF064561), BE II aus Süßkartoffel (GenBank Acc: AB071286), BE III und BE IV (häufig auch als BE 3 bzw. BE 4 bezeichnet) aus Reis (BE III GenBank Acc: D16201; BE IV GenBank Acc: AB023498), BE 1 aus Bohne (GenBank Acc: AB029548), BE I aus Erbse (GenBank 10 Acc: X80009), BE IIb aus Hirse (GenBank Acc: AY304540), BE II aus Kartoffel (GenBank Acc: AJ000004, AJ011885, AJ011888, AJ011889, AJ011890), BE II bzw. BE Ila aus Weizen (GenBank Acc: Y11282, AF286319, AF338432, U66376) und BE II, bzw. BE IIb aus Mais (BE II GenBank Acc: AAA18571, T02981; BE IIb GenBank Acc: 15 AF072725, L08065). Dabei weisen die für verschiedene Verzweigungsenzyme der Klasse 2 codierenden Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

20 Pflanzliche- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören zur Familie der alpha-amylolytischen Enzyme (Svensson, 1994, Plant Molecular Biology 25, 141-157; Jespersen et al., 1991, Biochem J. 280, 51-55) und weisen bezüglich ihrer Aminosäuresequenz vier konservierte Domänen auf (Baba et al., 1991, Biochem. Biophys. Res. Commun. 181(1), 87-94; Kuriki et al., 1996, J. of Protein Chemistry 15(3), 305-313).

Auf mathematischen Berechnungen, abgeleitet von experimentellen Daten, wie z.B. Proteinkristallstrukturen, basierende Strukturvorhersagen (Pfam: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?) ergeben, dass alle bisher bekannten Verzweigungsenzyme aus höheren Pflanzen zwei Domänen aufweisen: eine Alpha-Amylase-Domäne und

30

eine Iso-Amylase-Domäne. Dabei liegt die Iso-Amylase-Domäne näher am N-Terminus des Proteins, als die Alpha-Amylase Domäne.

Bekannt sind z.B. Pflanzen, die auf Grund einer Mutation eine reduzierte Aktivität eines Verzweigungsenzyms der Klasse 2 aufweisen. Dazu gehören die sogenannten "amylose extender" (ae) Mutanten aus Mais (Stindard et al., 1993, Plant Cell 5, 1555-1566; Boyer und Preiss, 1978, Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 169-175) und Reis (Mizuno et al., 1993, J. Biol. Chem. 268, 19084-19091), sowie die "rugosus" (r) Mutation in Erbse (Smith, 1988, Planta 175, 270-279; Bhattacharyya et al., 1990, Cell 60, 115-122). Alle diese Mutanten zeichnen sich dadurch aus, dass sie eine Stärke synthetisieren, die einen erhöhten Anteil an Amylose aufweist im Vergleich zu Stärke aus entsprechenden Pflanzen, die diese Mutation nicht aufweisen.

5

10

25

30

Ferner sind genetisch modifizierte Kartoffelpflanzen beschrieben, bei welchen die Aktivität eines BE I (Klasse 1) Verzweigungsenzyms (Kossmann et al., 1991, Mol Gen Genet 230, 39-44; Safford et al., 1998, Carbohydrate Polymers 35, 155-168), bzw. die Aktivität eines BEII (Klasse 2) Verzweigungsenzyms (Jobling et al., 1999, The Plant Journal 18), bzw. die Aktivität eines BEI und BEII Verzweigungsenzyms (Schwall et al., 2000, Nature Biotechnology 18, 551- 554, Jobling et al., 2003, Nature Biotechnology 21, 77-80) reduziert sind.

Bisher konnten alle pflanzlichen Verzweigungsenzyme einer der beiden oben beschriebenen Klassen zugeordnet werden. Pflanzenzellen oder Pflanzen, die eine verringerte Aktivität eines Verzweigungsenzyms aufweisen, welches nicht diesen Klassen zugeordnet werden kann, sind nicht bekannt.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zu Grunde, modifizierte Stärken, neue Pflanzenzellen und/oder Pflanzen, die eine solche modifizierte Stärke synthetisieren, sowie Mittel und Verfahren zur Erzeugung besagter Pflanzen zur Verfügung zu stellen.

Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen bezeichneten Ausführungsformen gelöst.

Somit betrifft die vorliegende Erfindung genetisch modifizierte Pflanzenzellen und genetisch modifizierte Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzenzellen bzw. Pflanzen eine verringerte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen aufweisen.

10 Ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Pflanzenzelle oder Pflanze, die genetisch modifiziert ist, wobei die genetische Modifikation zur Verringerung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt, im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen.

15

5

Die genetische Modifikation kann dabei jede genetische Modifikation sein, die zu einer Verringerung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen oder Wildtyp-Pflanzen.

20

25

30

Der Begriff "Wildtyp-Pflanzenzelle" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzenzellen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzenzellen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle entspricht.

Der Begriff "Wildtyp-Pflanze" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanze entspricht.

Der Begriff "entsprechend" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass beim Vergleich von mehreren Gegenständen die betreffenden Gegenstände, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Bedingungen gehalten wurden. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bedeutet der Begriff "entsprechend" im Zusammenhang mit Wildtyp-Pflanzenzelle oder Wildtyp-Pflanze, dass die Pflanzenzellen oder Pflanzen, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Kulturbedingungen aufgezogen wurden und dass sie ein gleiches (Kultur-) Alter aufweisen.

10

15

20

25

30

5

In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die genetische Modifikation der erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder der erfindungsgemäßen Pflanzen durch Mutagenese eines oder mehrerer Gene hervorgerufen. Die Art der Mutation ist dafür unerheblich, solange sie zu einer Reduktion der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.

Unter dem Begriff "Mutagenese" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung jegliche Art von eingeführten Mutationen verstanden werden, wie z.B. Deletionen, Punktmutationen (Nukleotidaustausche), Insertionen, Inversionen, Genkonversionen oder Chromosomentranslokation.

Die Mutation, die zur Verringerung der Aktivität mindestens eines endogenen Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt, kann dabei durch den Einsatz chemischer Agenzien oder energiereicher Strahlung (z.B. Röntgen-, Neutronen-, Gamma- UV-Strahlung) erzeugt werden.

Agentien, die zur Erzeugung chemisch induzierter Mutationen eingesetzt werden können und die durch Einwirkung der entsprechenden Mutagene dabei entstehenden Mutationen sind z.B. beschrieben bei Ehrenberg und Husain, 1981, (Mutation Research 86, 1-113), Müller, 1972 (Biologisches Zentralblatt 91 (1), 31-48). Die Erzeugung von Reismutanten unter Verwendung von Gamma Strahlen, Ethyl-Methan-Sulfonat (EMS), N-methyl-N-Nitrosurea oder Natriumazid (NaN₃) ist z.B. beschrieben in Jauhar und

Siddiq (1999, Indian Journal of Genetics, 59 (1), 23-28), bei Rao (1977, Cytologica 42, 443-450), Gupta und Sharma (1990, Oryza 27, 217-219) und Satoh und Omura (1981, Japanese Journal of Breeding 31 (3), 316-326). Die Erzeugung von Weizenmutanten unter Verwendung von NaN₃ bzw. Maleic hydrazide ist in Arora et al. (1992, Annals of Biology 8 (1), 65-69) beschrieben. Eine Übersicht zur Erzeugung von Weizenmutanten unter Verwendung von verschiedenen Arten energiereicher Strahlung und chemischer Agenzien ist in Scarascia-Mugnozza et al. (1993, Mutation Breeding Review 10, 1-28) dargestellt. Svec et al. (1998, Cereal Research Communications 26 (4), 391-396) beschreibt die Anwendung von N-ethyl-N-Nitrosurea zur Erzeugung von Mutanten in Triticale. Die Verwendung von MMS (Methylmethansulfonsäure) und Gamma Strahlung zur Erzeugung von Hirsemutanten ist in Shashidhara et al. (1990, Journal of Maharashtra Agricultural Universities 15 (1), 20-23) beschrieben.

10

15

25

30

Die Herstellung von Mutanten in Pflanzenspezies, die sich hauptsächlich vegetativ vermehren, wurde z.B. für Kartoffeln, die eine veränderte Stärke produzieren (Hovenkamp-Hermelink et al. (1987, Theoretical and Applied Genetics 75, 217-221) und für Minze mit erhöhtem Ölertrag bzw. veränderter Ölqualität (Dwivedi et al., 2000, Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 22, 460-463) beschrieben.

Alle diese Methoden sind grundsätzlich geeignet, die erfindungsgemäßen 20 Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen herzustellen.

Das Auffinden von Mutationen in den entsprechenden Genen, insbesondere in Genen codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, kann mit Hilfe von dem Fachmann bekannten Methoden geschehen. Insbesondere können hierzu Analysen, basierend auf Hybridisierungen mit Sonden (Southern Blot), der Amplifikation mittels Polymerasekettenreaktion (PCR), der Sequenzierung betreffender genomischer Sequenzen und die Suche nach einzelnen Nukleotidaustauschen angewandt werden. Eine Methode, um Mutationen anhand von Hybridisierungsmustern zu identifizieren, ist z.B. die Suche nach Restriktionsfragment Längen-Unterschieden (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) (Nam et al., 1989, The Plant Cell 1, 699-705; Leister and Dean, 1993, The Plant Journal 4 (4), 745-750). Eine auf PCR basierende Methode ist

z.B. die Analyse von amplifizierten Fragment Längenunterschieden (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) (Castiglioni et al., 1998, Genetics 149, 2039-2056; Meksem et al., 2001, Molecular Genetics and Genomics 265, 207-214; Meyer et al., 1998, Molecular and General Genetics 259, 150-160). Auch die Verwendung von mit Restriktionsendonukleasen geschnittenen amplifizierten Fragmenten Amplified Polymorphic Sequences, CAPS) kann zur Identifizierung von Mutationen herangezogen werden (Konieczny und Ausubel, 1993, The Plant Journal 4, 403-410; Jarvis et al., 1994, Plant Molecular Biology 24, 685-687; Bachem et al., 1996, The Plant Journal 9 (5), 745-753). Methoden zur Ermittlung von SNPs sind u.a. von Qi et al. (2001, Nucleic Acids Research 29 (22), e116) Drenkard et al. (2000, Plant Physiology 124, 1483-1492) und Cho et al. (1999, Nature Genetics 23, 203-207) beschrieben worden. Insbesondere sind Methoden, die es erlauben, viele Pflanzen innerhalb kurzer Zeit auf Mutationen in bestimmten Genen hin zu untersuchen, geeignet. Solch eine Methode, das sogenannte TILLING (Targetting Induced Local Lesions IN Genomes), ist von McCallum et al. (2000, Plant Physiology 123, 439-442) beschrieben worden.

Diese Methoden sind zur Identifizierung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen und erfindungsgemäßer Pflanzen grundsätzlich geeignet.

Hoogkamp et al. (2000, Potato Research 43, 179-189) haben, ausgehend von einer mittels chemischer Mutagense hergestellten Kartoffelmutante (amf), stabile monoploide Mutanten hergestellt. Diese Pflanzen synthetisieren kein aktives Enzym mehr für eine stärkekorngebundene Stärkesynthase (GBSS I) und produzieren daher eine amylosefreie Stärke. Die erhaltenen monoploiden Kartoffelpflanzen können als Ausgangsmaterial für weitere Mutagenesen eingesetzt werden, um Pflanzen zu identifizieren, die eine Stärke mit veränderten Eigenschaften synthetisieren. Nach entsprechenden Methoden können auch die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen, die eine erfindungsgemäße Stärke produzieren, erzeugt, identifiziert und isoliert werden.

5

10

15

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen weisen eine Verringerung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 auf im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen.

Der Begriff "Verringerung der Aktivität" bedeutet dabei im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Verringerung der Expression endogener Gene, die Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren und/oder eine Verringerung der Menge an Protein eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in den Pflanzenzellen und/oder eine Verringerung der enzymatischen Aktivität von Verzweigungsenzymen Klasse 3 in den Pflanzenzellen.

Die Verringerung der Expression kann beispielsweise bestimmt werden durch Messung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Transkripten, z.B. durch Northern-Blot-Analyse oder RT-PCR. Eine Verringerung bedeutet dabei vorzugsweise eine Verringerung der Menge an Transkripten im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Pflanzenzellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 95%.

- Die Verringerung der Menge an Protein eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, die eine verringerte Aktivität dieser Proteine in den betreffenden Pflanzenzellen zur Folge hat, kann beispielsweise bestimmt werden durch immunologische Methoden wie Western-Blot-Analyse, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) oder RIA (Radio Immune Assay). Eine Verringerung bedeutet dabei vorzugsweise eine Verringerung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 Protein im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Pflanzenzellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 95%.
- 30 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird unter dem Begriff "Verzweigungsenzym"" $(\alpha-1,4-Glukan: \alpha-1,4-Glukan 6-Glycosyltransferase, E.C. 2.4.1.18)$ ein Protein

verstanden, das eine Transglycosylierungsreaktion katalysiert, in der α -1,4-Verknüpfungen eines α -1,4-Glukandonors hydrolysiert und die dabei freigesetzten α -1,4-Glukanketten auf eine α -1,4-Glukanakzeptorkette transferiert und dabei in α -1,6-Verknüpfungen überführt werden. Insbesondere soll im Rahmen der vorliegenden Erfindung unter dem Begriff "Verzweigungsezym" ein pflanzliches Verzweigungsenzym, d.h. ein Stärke-Verzweigungsenzym verstanden werden.

Nachgewiesen werden kann die Aktivität eines Verzweigungsenzyms z.B. mit Hilfe der nativen Acrylamidgelelektrophorese. Dabei werden Proteine zunächst elektrophoretisch aufgetrennt und die entsprechenden Gele nach Inkubation in Puffern, enthaltend eine lineare α -1,4-Glukan Ketten synthetisierende Aktivität (z.B. Stärkephosphorylase a) und deren Substrat (z.B. Glukose-6-Phosphat), mit Jod gefärbt (Kimihiko et al., 1980, Analytical Biochemistry 108, 16-24).

Weiterhin können Verzweigungsenzyme in mikrobiellen Organismen, wie z.B. dem *E. coli* Stamm KV832 (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301), die keine verzweigten α-Glukane synthetisieren, exprimiert werden. Wird durch die Expression eines fremden Gens in solchen Stämmen (z.B. *E. coli* KV832) eine Aktivität eines Verzweigungsenzyms in den mikrobiellen Organismus eingeführt, so kann die Verzweigungsenzymaktivität z.B. durch Bedampfung von Kolonien dieser Organismen mit Jod nachgewiesen werden. Kolonien, die lineare α-1,4-Glukane synthetisieren, färben in diesem Nachweis blau, während Kolonien, welche durch Expression einer zusätzlichen enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms verzweigte Glukane synthetisieren, nach Bedampfung mit Jod rötlich braun färben. Auch die Expression von Proteinen in Phosphoglucomutasemutanten von *E. coli* ist zur Identifizierung einer Verzweigungsenzymaktivität von entsprechenden Proteinen möglich (Buettcher et al., 1999, Biochem. Biophys. Acta 1432, 406-412).

Eine weitere Möglichkeit, Verzweigunsenzymaktivität von Proteinen nachzuweisen, ist die Verwendung einer Phosphorylase a stimulierten Reaktion und die anschließende Auftrennung der Produkte mittes Dünnschichtchromatographie (Almstrupp et al., 2000, Analytical Biochemistry 286, 297-300).

Ebenfalls nachgewiesen werden können Verzweigungsenzymaktivitäten mit Hilfe der bei Guan und Preiss (1993, Plant Physiol. 102. 1269- 1273) und Kuriki et al. (1996, J. of Protein Chemistry 15, 305-313) beschriebenen Methoden.

5 Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Verzweigungsenzym verstanden werden, das mit der in Seq ID NO 4 dargestellten Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität aufweist, als mit der des Verzweigungsenzyms BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081) oder mit der des Verzweigungsenzyms BE IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725).
10 Vorzugsweise stammt das Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weisen Aminosäuresequenzen codierend Verzweigungsenzyme der Klasse 3 eine Identität mit der in SEQ ID NO 4 dargestellten Sequenz von mindestens 60%, insbesondere von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80% und besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% auf.

Verzweigungsenzyme der Klasse 3 weisen erfindungsgemäß eine Iso-Amylase-Domäne (Pfam acc.: Pf02922) und eine Alpha-Amylase-Domäne (Pfam acc: Pf00128) auf. Erfindungsgemäß sind die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne in Verzweigungsenzyme codierenden Aminosäuresequenzen durch das Vorhandensein weiterer Aminosäuren, die diesen beiden Domänen nicht zugehören, voneinander getrennt.

Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich dadurch aus, dass die Iso-Amylase Domäne von der Alpha-Amylase Domäne durch eine größere Anzahl an Aminosäuren voneinander getrennt ist, als die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne von Verzweigungsenzymen der Klassen 1 und 2.

30 Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich bezüglich ihrer Aminosäuresequenz bevorzugt dadurch aus, dass sie zwischen der Iso-Amylase

Domäne und der Alpha-Amylase Domäne mindestens 70, bevorzugt mindestens 100, besonders bevorzugt mindestens 130 und insbesondere bevorzugt mindestens 198 Aminosäuren aufweisen. In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das C-terminale Ende der Iso-Amylase Domäne vom N-terminalen Anfang der Alpha-Amylase Domäne bei der für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Aminosäuresequenz durch 70 bis 198, bevorzugt durch 100 bis 198, besonders bevorzugt durch 130 bis 198 und insbesondere besonders bevorzugt durch 150 bis 198 Aminosäuren voneinander getrennt.

5

15

20

25

30

Mit Hilfe der Pfam-Datenbank (Batemann et al., 2002, Nucleic Acids Research 30, 276-280; erreichbar über http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/, http://www.cgb.ki.se/Pfam/; http://pfam.jouy.inra.fr/ oder http://pfam.wustl.edu/) ist es dem Fachmann möglich, zu ermitteln, ob Aminosäuresequenzen bereits bekannte Domänen (z.B. eine Iso-Amylase und/oder eine Alpha-Amylase Domäne) aufweisen.

Pfam ist eine von Experten zusammengestellte Datenbank, die Aminosäuresequenzen in sogenannte Familien einteilt. Die Zuordnung einer Aminosäuresequenz zu einer Familie erfolgt dabei auf Basis von sogenannten Domänen, die als funktionelle und strukturelle Bausteine von Proteinen anzusehen sind. Eine Domäne ist definiert als strukturelle Einheit oder mehrfach auftretende Aminosäuresequenz-Einheit, die in Proteinen unterschiedlichster Funktion vorkommen kann. Neben Informationen betreffend die Aminosäuresequenz bekannter Proteine werden auch weitere Erkenntnisse (z.B. Nachweis der enzymatischen Aktivität, Kristallstrukturdaten) für die Zuordnung eines Proteins zu einer Familie herangezogen. Jeder Familie wird ein Name und eine "accession" Nummer (z.B. Name: Isoamylase_N, acc:PF02922) zugewiesen. Bestandteil jeder Familie in der Pfam-Datenbank ist u.a. ein sogenanntes "seed

Bestandteil jeder Familie in der Pfam-Datenbank ist u.a. ein sogenanntes "seed alignment". Das "seed alignment" enthält die Aminosäuresequenzen von repräsentativen Proteinen einer Familie. Ausgehend von "seed alignments" wird ein sogenanntes Profil HMM ("profile Hidden Markov Model"; Übersichtsartikel in: Durbin et al., "Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids", Cambridge University Press, 1998, ISBN 0-521-62041-4) durch Verwendung der HMMER 2 Software (frei erhältlich unter http://hmmer.wustl.edu/) erzeugt. Die

erzeugten HMMs haben Namen und sind spezifisch für die entsprechend zugeordneten Domänen in der Pfam-Datenbank abgelegt. HMMs beruhen im Gegensatz zu klassischen, multiplen "alignments" (z.B. hergestellt mit dem Program Clustal W oder dem Algorhytmus Blossum62) auf einer validen statistischen Theorie (Bayes-Theorie der bedingten Wahrscheinlichkeit, Markoff-Ketten) und ermöglichen die Zuordnung einer Abfrage Sequenz (Query) zu einer Familie basierend auf der Verwendung von positionsspezifischen Bewertungsmatrizen. Dieses ermöglicht eine Zuordnung auch dann, wenn erhebliche Unterschiede in den Aminosäuresequenzen zwischen Abfrage-Sequenz (Query) und einer Vergleichs-Sequenz (z.B. Aminosäuresequenzeintrag in einer Datenbank) vorliegen.

5

10

15

20

25

Mittels eines Vergleiches der in der Pfam-Datenbank gespeicherten HMMs mit Aminosäuresequenzen, die als sogenannte Abfrage-Sequenz (Query) eingegeben werden, kann somit die Domänen Struktur der betreffenden Aminosäuresequenz ermittelt werden (z.B. unter: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?).

Unter dem Begriff "Iso-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) verstanden werden. Dabei ist das diese Pfam Iso-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 1 dargestellten Aminosäuresequenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung mittels des Programs ClustalW (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680; siehe unten) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMMs sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild –F HMM_Is, hmmcalibrate –seed 0 HMM_Is; Gathering cutoff: 2.3 2.3; Trusted cutoff: 2.3 2.2; Noise cutoff: 2.1 2.1). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) sind in Tabelle 3 dargestellt.

30 Unter dem Begriff "Alpha-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden-Erfindung eine Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128), verstanden

werden. Dabei ist das diese Pfam Alpha-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 2 dargestellten Aminosäuresequenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird dabei mittels HMM_simulated_annealing (http://www.psc.edu/general/software/packages/hmmer/manual/node11.html#SECTION 0032100000000000000) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMM sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild –F HMM_ls, hmmcalibrate –seed 0 HMM_ls; Gathering cutoff: -82.0 –82.0; Trusted cutoff: -81.7 – 81.7; Noise cutoff: -82.7 –82.7). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128) sind in Tabelle 4 dargestellt.

Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3 Gen" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Nucleinsäuremolekül (cDNA, DNA) verstanden werden, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3, vorzugsweise ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum, codiert.

15

20

Eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft eine erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanzenzelle oder eine erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanze, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle bzw. in das Genom der Pflanze besteht.

In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff "genetische Modifikation" das Einführen von homologen und/oder heterologen fremden Nucleinsäuremolekülen in das Genom einer Pflanzenzelle oder in das Genom einer Pflanze, wobei besagtes Einführen dieser Moleküle zur Reduktion der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.

Durch Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls sind die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen in ihrer genetischen Information verändert. Das Vorhandensein oder die Expression des fremden Nucleinsäuremoleküls führt zu einer phänotypischen Veränderung. "Phänotypische" Veränderung bedeutet

dabei vorzugsweise eine meßbare Veränderung einer oder mehrerer Funktionen der Zellen. Beispielsweise zeigen die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzen aufgrund des Vorhandenseins oder bei Expression des eingeführten Nucleinsäuremoleküls eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3.

5

Unter dem Begriff "fremdes Nukleinsäuremolekül" versteht man im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein solches Molekül, das entweder natürlicherweise in entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen nicht vorkommt, oder das in der konkreten räumlichen Anordnung nicht natürlicherweise in nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen vorkommt oder das an einem Ort im Genom der Wildtyp-Pflanzenzelle lokalisiert ist, an dem es natürlicherweise nicht vorkommt. Bevorzugt ist das fremde Nukleinsäuremolekül ein rekombinantes Molekül, das aus verschiedenen Elementen besteht, deren Kombination oder spezifische räumliche Anordnung natürlicherweise in pflanzlichen Zellen nicht auftritt.

Prinzipiell kann das fremde Nucleinsäuremolekül jedes beliebige Nucleinsäuremolekül sein, das in der Pflanzenzelle oder Pflanze eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 bewirkt.

Unter dem Begriff "Genom" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Gesamtheit des in einer pflanzlichen Zelle vorliegenden Erbmaterials verstanden werden. Dem Fachmann ist bekannt, dass neben dem Zellkern auch andere Kompartimente (z.B. Plastiden, Mitochondrien) Erbmaterial enthalten.

In einer weiteren Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen Pflanzezellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen dadurch gekennzeichnet, dass das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert, bevorzugt ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzen einer Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform codiert das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 mit der in SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz.

Für die Einführung von DNA in eine pflanzliche Wirtszelle stehen eine Vielzahl von Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Transformation pflanzlicher Zellen mit T-DNA unter Verwendung von Agrobacterium tumefaciens oder Agrobacterium rhizogenes als Transformationsmittel, die Fusion von Protoplasten, die Injektion, die Elektroporation von DNA, die Einbringung der DNA mittels des biolistischen Ansatzes sowie weitere Möglichkeiten.

Die Verwendung der Agrobakterien-vermittelten Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120516; Hoekema, IN: The Binary Plant Vector System Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblasserdam (1985), Chapter V; Fraley et al., Crit. Rev. Plant Sci. 4, 1-46 und bei An et al. EMBO J. 4, (1985), 277-287 beschrieben worden. Für die Transformation von Kartoffel, siehe z.B. Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8, (1989), 29-33.).

15

20

25

30

Auch Transformation monokotyler Pflanzen mittels auf Agrobakterium Transformation basierender Vektoren wurde beschrieben (Chan et al., Plant Mol. Biol. 22, (1993), 491-506; Hiei et al., Plant J. 6, (1994) 271-282; Deng et al, Science in China 33, (1990), 28-34; Wilmink et al., Plant Cell Reports 11, (1992), 76-80; May et al., Bio/Technology 13, (1995), 486-492; Conner und Domisse, Int. J. Plant Sci. 153 (1992), 550-555; Ritchie et al, Transgenic Res. 2, (1993), 252-265). Alternatives System zur Transformation von monokotylen Pflanzen ist die Transformation mittels des biolistischen Ansatzes (Wan und Lemaux, Plant Physiol. 104, (1994), 37-48; Vasil et al., Bio/Technology 11 (1993), 1553-1558; Ritala et al., Plant Mol. Biol. 24, (1994), 317-325; Spencer et al.. Theor. Appl. Genet. 79. (1990),625-631). Protoplastentransformation, die Elektroporation von partiell permeabilisierten Zellen, die Einbringung von DNA mittels Glasfasern, Insbesondere die Transformation von Mais wird in der Literatur mehrfach beschrieben (vgl. z. B. WO95/06128, EP0513849, EP0465875, EP0292435; Fromm et al., Biotechnology 8, (1990), 833-844; GordonKamm et al., Plant Cell 2, (1990), 603-618; Koziel et al., Biotechnology 11 (1993), 194-200; Moroc et al., Theor. Appl. Genet. 80, (1990), 721-726).

Auch die erfolgreiche Transformation anderer Getreidearten wurde bereits beschrieben, z.B. für Gerste (Wan und Lemaux, s.o.; Ritala et al., s.o.; Krens et al., Nature 296, (1982), 72-74) und für Weizen (Nehra et al., Plant J. 5, (1994), 285-297). Alle vorstehenden Methoden sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung geeignet.

5

10

15

20

25

30

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen lassen sich von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen unter anderem dadurch unterscheiden. dass sie ein fremdes Nucleinsäuremolekül enthalten. natürlicherweise in Wildtyp-Planzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt oder dadurch, dass ein solches Molekül an einem Ort im Genom der erfindungsgemäßen Pflanzenzelle oder im Genom der erfindungsgemäßen Pflanze integriert vorliegt, an dem es bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt, d.h. in einer anderen genomischen Umgebung. Ferner lassen sich derartige erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen dadurch unterscheiden, dass sie mindestens eine Kopie des fremden Nucleinsäuremoleküls stabil integriert in ihr Genom enthalten, gegebenenfalls zusätzlich natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorkommenden Kopien eines solchen Moleküls. Handelt es sich bei dem (den) in die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen eingeführten fremden Nucleinsäuremolekül(en) um zusätzliche Kopien zu bereits natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorkommenden Molekülen, so lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen insbesondere dadurch unterscheiden, dass diese zusätzliche(n) Kopie(n) an Orten im Genom lokalisiert ist (sind), an denen sie bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt (vorkommen). Dies läßt sich beispielsweise mit Hilfe einer Southern Blot-Analyse nachprüfen.

Weiterhin lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorzugsweise durch mindestens eines der folgenden Merkmale unterscheiden: Ist das eingeführte fremde

Nucleinsäuremolekül heterolog in Bezug auf die Pflanzenzelle oder Pflanze, so weisen die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen Transkripte der eingeführten Nucleinsäuremoleküle auf. Diese lassen sich z. B. durch Northern-Blot-Analyse oder durch RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) nachweisen. Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die ein Antisense- und/oder ein RNAi-Transkript exprimieren, können z.B. mit Hilfe von spezifischen Nucleinsäure-Sonden, die komplementär zur der für das Protein codierenden (natürlich in der Pflanzenzelle vorkommenden) RNA sind, nachgewiesen werden.

5

25

10 Ist das eingeführte fremde Nucleinsäuremolekül homolog in Bezug auf die Pflanzenzelle erfindungsgemäßen Pflanzenzellen Pflanze. können die und erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen beispielsweise aufgrund der zusätzlichen Expression der eingeführten fremden Nucleinsäuremoleküle unterschieden werden. Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen 15 und die erfindungsgemäßen Pflanzen enthalten vorzugsweise (sense und/oder antisense) Transkripte der fremden Nucleinsäuremoleküle. Dies kann z. B. durch Northern Blot Analyse oder mit Hilfe der sogenannten quantitativen PCR nachgewiesen werden.

In einer speziellen Ausführungsform handelt es sich bei den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und bei den erfindungsgemäßen Pflanzen um transgene Pflanzenzellen bzw. transgene Pflanzen.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz
 30 eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO 4 angegebenen
 Aminosäuresequenz aufweist;

- c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder
 c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und

5

20

- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.
- 15 Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
 - a) DNA-Molekülen, die mindestens eine antisense-RNA codieren, welche eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
 - b) DNA-Molekülen, die über einen Cosuppressionseffekt zu Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen führen, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
- c) DNA-Molekülen, die mindestens ein Ribozym codieren, das spezifisch
 25 Transkripte von mindestens einem endogenen Gen spaltet, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert,
 - d) DNA-Molekülen, die simultan mindestens eine antisense-RNA und mindestens eine sense-RNA codieren, wobei besagte antisense-RNA und besagte sense-RNA ein doppelsträngiges RNA-Molekül ausbilden, das eine Verringerung der

- Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert (RNAi Technologie);
- e) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Verringerung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge hat;
- f) Nucleinsäuremolekülen, die einen Antikörper codieren, wobei der Antikörper durch die Bindung an ein Verzweigungsenzym Klasse 3 eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 zur Folge hat,

5

15

20

25

30

- g) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, wobei die Integration dieser Transposons zu einer Mutation oder einer Insertion in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führt, welches eine Verringerung der Expression von mindestens einem ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzymen Klasse 3 zur Folge hat; und/oder
- h) T-DNA Molekülen, die durch Insertion in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen eine Verringerung der Expression von mindestens einem Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen bewirken, oder die Synthese von inaktivem Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge haben.

Die Herstellung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen und erfindungsgemäßer Pflanzen kann durch verschiedene, dem Fachmann bekannte Verfahren erzielt werden. Hierzu zählen beispielsweise die Expression einer entsprechenden antisense-RNA, oder eines doppelsträngigen RNA Konstruktes, die Bereitstellung von Molekülen oder Vektoren, die einen Cosuppressionseffekt vermitteln, die Expression eines entsprechend konstruierten Ribozyms, das spezifisch Transkripte spaltet, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, oder die sogenannte "in-vivo-Mutagenese". Ferner kann die Verringerung der Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität in Pflanzenzellen und Pflanzen

auch durch die simultane Expression von sense und antisense RNA Molekülen des jeweiligen zu reprimierenden Zielgens, vorzugsweise des Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens, hervorgerufen werden.

Darüberhinaus ist bekannt, dass *in planta* die Bildung von doppelsträngigen RNA-Molekülen von Promotorsequenzen *in trans* zu einer Methylierung und einer transkriptionellen Inaktivierung homologer Kopien dieses Promotors führen kann (Mette et al., EMBO J. 19, (2000), 5194-5201).

Eine weitere Möglichkeit die enzymatische Aktivität von Proteinen in Pflanzenzellen oder Pflanzen zu verringern, ist die Methode der sogenannten Immunomodulation. Es ist bekannt, dass eine *in planta* Expression von Antikörpern, die ein pflanzliches Protein spezifisch erkennen, durch Ausbildung eines Protein Antikörper Komplexes eine Verringerung der Aktivität betreffender Proteine in entsprechenden Pflanzenzellen zur Folge hat (Conrad und Manteufel, Trends in Plant Science 6, (2001), 399-402; De Jaeger et al., Plant Molecular Biology 43, (2000), 419-428; Jobling et al., Nature Biotechnology 21, (2003), 77-80).

Alle diese Verfahren basieren auf der Einführung eines fremden oder mehrerer fremder Nukleinsäuremoleküle in das Genom von Pflanzenzellen oder Pflanzen und sind daher grundsätzlich geeignet, erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen herzustellen.

20

25

30

5

10

15

Zur Inhibierung der Genexpression mittels antisense- oder cosuppressions-Technologie kann beispielsweise ein DNA-Molekül verwendet werden, das die gesamte für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierende Sequenz einschließlich eventuell vorhandener flankierender Sequenzen umfaßt, als auch DNA-Moleküle, die nur Teile der codierenden Sequenz umfassen, wobei diese Teile lang genug sein müssen, um in den Zellen einen antisense-Effekt bzw. cosuppressions-Effekt zu bewirken. Geeignet sind im allgemeinen Sequenzen bis zu einer Mindestlänge von 21 bp, vorzugsweise einer Mindestlänge von mindesten 100 bp, besonders bevorzugt von mindestens 500 bp. Beispielsweise weisen die DNA Moleküle eine Länge von 21-100 bp, bevorzugt von 100-500 bp, besonders bevorzugt über 500 bp auf.

Für antisense- oder cosuppressions-Ansätze geeignet ist auch die Verwendung von DNA-Sequenzen, die einen hohen Grad an Identität zu den endogen in der Pflanzenzelle vorkommenden Sequenzen haben, und die Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren. Die minimale Identität sollte größer als ca. 65 %, vorzugsweise größer als 80% sein. Die Verwendung von Sequenzen mit Identitäten von mindestens 90%, insbesondere zwischen 95% und 100% ist zu bevorzugen. Die Bedeutung des Begriffs "Identität" wird an anderer Stelle definiert.

5

15

Ferner ist zur Erzielung eines antisense- oder eines cosuppressions-Effektes auch die Verwendung von Introns, d.h. von nicht-codierenden Bereichen von Genen, die für Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren, denkbar.

Die Verwendung von Intron-Sequenzen zur Inhibierung der Genexpression von Genen, die für Proteine der Stärkebiosynthese codieren, wurde beschrieben in den internationalen Patentanmeldungen WO97/04112, WO97/04113, WO98/37213, WO98/37214.

Dem Fachmann ist bekannt, wie er einen antisense- und einen cosuppressions- Effekt erzielen kann. Das Verfahren der cosuppressions-Inhibierung wurde beispielsweise beschrieben in Jorgensen (Trends Biotechnol. 8 (1990), 340-344), Niebel et al., (Curr. Top. Microbiol. Immunol. 197 (1995), 91-103), Flavell et al. (Curr. Top. Microbiol. Immunol. 197 (1995), 43-46), Palaqui und Vaucheret (Plant. Mol. Biol. 29 (1995), 149-159), Vaucheret et al., (Mol. Gen. Genet. 248 (1995), 311-317), de Borne et al. (Mol. Gen. Genet. 243 (1994), 613-621).

- Auch die Expression von Ribozymen zur Verringerung der Aktivität von bestimmten Enzymen in Zellen ist dem Fachmann bekannt und ist beispielsweise beschrieben in EP-B1 0321201. Die Expression von Ribozymen in pflanzlichen Zellen wurde z.B. beschrieben in Feyter et al. (Mol. Gen. Genet. 250, (1996), 329-338).
- 30 Die Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen kann auch durch

die simultane Expression von sense und antisense RNA Molekülen (RNAi Technologie) des jeweiligen zu reprimierenden Zielgens, vorzugsweise des Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens, hervorgerufen werden.

Dies kann beispielsweise durch die Verwendung von chimären Konstrukten erreicht werden, die "inverted repeats" des jeweiligen Zielgens oder Teilen des Zielgens enthalten. Hierbei codieren die chimären Konstrukte für sense und antisense RNA Moleküle des jeweiligen Zielgens. Sense und antisense RNA werden *in planta* gleichzeitig als ein RNA-Molekül synthetisiert, wobei sense und antisense RNA durch einen Spacer voneinander getrennt sein und ein doppelsträngiges RNA-Molekül bilden können.

10

15

20

25

30

Es konnte gezeigt werden, dass die Einführung von inverted-repeat-DNA-Konstrukten in das Genom von Pflanzenzellen oder Pflanzen eine sehr effiziente Methode ist, um die zu den inverted-repeat-DNA-Konstrukten korrespondierenden Gene zu reprimieren (Waterhouse et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, (1998), 13959-13964; Wang and Waterhouse, Plant Mol. Biol. 43, (2000), 67-82;Singh et al., Biochemical Society Transactions Vol. 28 part 6 (2000), 925- 927; Liu et al., Biochemical Society Transactions Vol. 28 part 6 (2000), 927-929); Smith et al., (Nature 407, (2000), 319-320; internationale Patentanmeldung WO99/53050 A1). Sense und antisense Sequenzen des Zielgens bzw. der Zielgene können auch getrennt voneinander mittels gleicher oder unterschiedlicher Promotoren exprimiert werden (Nap, J-P et al, 6th International Congress of Plant Molecular Biology, Quebec, 18.-24. Juni, 2000; Poster S7-27, Vortrag Session S7).

Die Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen kann somit auch durch die Erzeugung doppelsträngiger RNA-Moleküle, erreicht werden. Vorzugsweise werden hierzu "inverted repeats" von DNA-Molekülen von Verzweigungsenzym Klasse 3 Genen oder -cDNAs in das Genom von Pflanzen eingeführt, wobei die zu transkribierenden DNA-Moleküle (Verzweigungsenzym Klasse 3 Gen oder -cDNA oder Fragmente dieser Gene oder cDNAs) unter Kontrolle eines Promotors stehen, der die Expression besagter DNA-Moleküle steuert.

Darüberhinaus ist bekannt, dass die Bildung von doppelsträngigen RNA-Molekülen von Promotor-DNA-Molekülen in Pflanzen in trans zu einer Methylierung und einer transkriptionellen Inaktivierung homologer Kopien dieser Promotoren führen kann, die im folgenden als Zielpromotoren bezeichnet werden sollen (Mette et al., EMBO J. 19, (2000), 5194-5201).

5

25

30

Über die Inaktivierung des Zielpromotors ist es somit möglich, die Genexpression eines bestimmten Zielgens (z.B. Verzweigungsenzym V Gen), das natürlicherweise unter der Kontrolle dieses Zielpromotors steht, zu verringern.

10 D.h., die DNA-Moleküle, die die Zielpromotoren der zu reprimierenden Gene (Zielgene) umfassen, werden in diesem Fall, im Gegensatz zur ursprünglichen Funktion von Promotoren in Pflanzen, nicht als Steuerelemente zur Expression von Genen oder cDNAs, sondern selbst als transkribierbare DNA-Moleküle verwendet.

Zur Erzeugung der doppelsträngigen Zielpromotor-RNA-Moleküle in planta, die dort als 15 RNA-Haarnadel-Moleküle (RNA hairpin) vorliegen können, werden vorzugsweise Konstrukte verwendet, die "inverted repeats" der Zielpromotor-DNA-Moleküle enthalten, wobei die Zielpromotor-DNA-Moleküle unter Kontrolle eines Promotors stehen, der die Genexpression besagter Zielpromotor-DNA-Moleküle steuert. Anschließend werden diese Konstrukte in das Genom von Pflanzen eingeführt. Die Expression der "inverted 20 repeats" Zielpromotor-DNA-Moleküle führt planta besagter in Bildung doppelsträngiger Zielpromotor-RNA-Moleküle (Mette et al., EMBO J. 19, (2000), 5194-5201). Hierdurch kann der Zielpromotor inaktiviert werden.

Die Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen kann somit auch durch die Erzeugung doppelsträngiger RNA-Moleküle von Promotorsequenzen von Verzweigungsenzym Klasse 3 Genen erreicht werden. Vorzugsweise werden hierzu "inverted repeats" von Promotor-DNA-Molekülen von Verzweigungsenzy Klasse 3 Genen in das Genom von Pflanzen eingeführt, wobei die zu transkribierenden Zielpromotor-DNA-Moleküle (Promotor eines Verzweigungsebzym Klasse 3 Gens) unter Kontrolle eines Promotors stehen, der die Expression besagter Zielpromotor-DNA-

Moleküle steuert.

Zur Inhibierung der Genexpression mittels simultaner Expression von sense und antisense RNA Molekülen (RNAi Technologie) kann beispielsweise ein DNA-Molekül verwendet werden, das die gesamte für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierende Sequenz einschließlich eventuell vorhandener flankierender Sequenzen umfaßt, als auch DNA-Moleküle, die nur Teile der codierenden Sequenz umfassen, wobei diese Teile lang genug sein müssen, um in den Zellen einen sogenannten RNAi-Effekt zu bewirken. Geeignet sind im allgemeinen Sequenzen mit einer Mindestlänge von 40 bp, vorzugsweise einer Mindestlänge von mindesten 100 bp, besonders bevorzugt von mindestens 500 bp. Beispielsweise weisen die DNA Moleküle eine Länge von 21-100 bp, bevorzugt von 100-500 bp auf.

Für simultane Expression von sense und antisense RNA Molekülen (RNAi Technologie) geeignet ist auch die Verwendung von DNA-Sequenzen, die einen hohen Grad an Identität zu den endogen in der Pflanzenzelle vorkommenden Sequenzen haben, und die Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren. Die minimale Identität sollte größer als ca. 65 %, vorzugsweise größer als 80% sein. Die Verwendung von Sequenzen mit Identitäten von mindestens 90%, insbesondere zwischen 95% und 100% ist besonders zu bevorzugen.

Ferner kann die Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen auch durch die sogenannte "in vivo-Mutagenese" erreicht werden, bei der durch Transformation von Zellen ein hybrides RNA-DNA-Oligonucleotid ("Chimeroplast") in Pflanzenzellen eingeführt wird (Kipp, P.B. et al., Poster Session beim " 5th International Congress of Plant_Molecular Biology, 21.-27. September 1997, Singapore; R. A. Dixon und C.J. Arntzen, Meeting report zu "Metabolic Engineering in Transgenic Plants", Keystone Symposia, Copper Mountain, CO, USA, TIBTECH 15, (1997), 441-447; internationale Patentanmeldung WO 9515972; Kren et al., Hepatology 25, (1997), 1462-1468; ColeStrauss et al., Science 273, (1996), 1386-1389; Beetham et al., 1999, PNAS 96, 8774-8778).

Ein Teil der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids ist homolog zu einer Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens, weist jedoch im Vergleich zur Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens eine Mutation auf oder enthält eine heterologe Region, die von den homologen Regionen umschlossen ist.

5

10

15

20

25

Durch Basenpaarung der homologen Regionen des RNA-DNA-Oligonucleotids und des endogenen Nukleinsäuremoleküls, gefolgt von homologer Rekombination, kann die in der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids enthaltene Mutation oder heterologe Region in das Genom einer Pflanzenzelle übertragen werden. Dies führt zu einer Verringerung der Aktivität eines oder mehrerer Verzweigungsenzyme Klasse 3.

Dem Fachmann ist bekannt, dass er die Aktivität von Verzweigungsenzymen Klasse 3 durch die Expression von nicht-funktionellen Derivaten insbesondere trans-dominanten Mutanten solcher Proteine und/oder durch die Expression von Antagonisten/Inhibitoren solcher Proteine erreichen kann.

Antagonisten/Inhibitoren solcher Proteine umfassen beispielsweise Antikörper. Antikörperfragmente oder Moleküle mit ähnlichen Bindungseigenschaften. Beispielsweise wurde ein cytoplasmatischer scFv Antikörper eingesetzt, um die Aktivität des Phytochrom A Proteins in gentechnisch veränderten Tabakpflanzen zu modulieren (Owen, Bio/Technology 10 (1992), 790-4; Review: Franken, E, Teuschel, U. und Hain, R., Current Opinion in Biotechnology 8, (1997), 411-416; Whitelam, Trends Plant Sci. 1 (1996), 268-272; Conrad und Manteufel, Trends in Plant Science 6, (2001), 399-402; De Jaeger et al., Plant Molecular Biology 43, (2000), 419-428) Die Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms in Kartoffelpflanzen mittels der Expression eines spezifischen Antikörpers wurde von Jobling et al. (Nature Biotechnology 21, (2003), 77-80) beschrieben. Dabei wurde der Antikörper mit einer plastidären Targetseguenz versehen, so dass die Inhibierung von in Plastiden lokalisierten Proteinen gewährleistet war.

30 Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung k\u00f6nnen erfindungsgem\u00e4\u00dfe en \u00e4\u00dfe en \u00e4\u00dfe en \u00e4\u0

Insertionsmutagenese (Übersichtsartikel: Thorneycroft et al., 2001, Journal of experimental Botany 52 (361), 1593-1601) hergestellt werden. Unter Insertionsmutagenese ist insbesondere das Inserieren von Transposons oder sogenannter Transfer DNA (T-DNA) in ein Gen codierend für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 zu verstehen, wobei dadurch die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der betreffenden Zelle verringert wird.

Bei den Transposons kann es sich dabei sowohl um solche handeln, die in der Zelle natürlicherweise vorkommen (endogene Transposons), als auch um solche, die 10 natürlicherweise nicht in besagter Zelle vorkommen, sondern mittels gentechnischer Methoden, wie z.B. Transformation der Zelle, in die Zelle eingeführt wurden (heterologe Transposons). Die Veränderung der Expression von Genen mittels Transposons ist dem Fachmann bekannt. Eine Übersicht über die Nutzung von endogenen und heterologen Transposons als Werkzeuge in der Pflanzenbiotechnologoie ist in 15 Ramachandran und Sundaresan (2001, Plant Physiology and Biochemistry 39, 234-252) dargestellt. Die Möglichkeit, Mutanten zu identifizieren, bei welchen spezifische Gene durch Transposoninsertionsmutagenese inaktiviert wurden, ist in einer Übersicht von Maes et al. (1999, Trends in Plant Science 4 (3), 90-96) dargestellt. Die Erzeugung von Reismutanten mit Hilfe endogener Transposons ist von Hirochika (2001, Current 20 Opinion in Plant Biology 4, 118-122) beschrieben. Die Identifizierung von Maisgenen, mit Hilfe endogener Retrotransposons wird z.B. von Hanley et al. (2000, The Plant Journal 22 (4), 557-566) dargestellt. Die Möglichkeit Mutanten mit Hilfe von Retrotransposons herzustellen und Methoden, Mutanten zu identifizieren, sind von Kumar und Hirochika (2001, Trends in Plant Science 6 (3), 127-134) beschrieben. Die 25 Aktivität von heterologen Transposons in unterschiedlichen Spezies, ist sowohl für diketelydone, als auch für monkotyledone Pflanzen beschrieben worden: z.B. für Reis (Greco et al., 2001, Plant Physiology 125, 1175-1177; Liu et al., 1999, Molecular and General Genetics 262, 413-420; Hiroyuki et al., 1999, The Plant Journal 19 (5), 605-613; Jeon und Gynheung, 2001, Plant Science 161, 211-219), Gerste (2000, Koprek et 30 al., The Plant Journal 24 (2), 253-263) Arabidopsis thaliana (Aarts et al., 1993, Nature 363, 715-717, Schmidt und Willmitzer, 1989, Molecular and General Genetics 220, 1724; Altmann et al., 1992, Theoretical and Applied Gentics 84, 371-383; Tissier et al., 1999, The Plant Cell 11, 1841-1852), Tomate (Belzile und Yoder, 1992, The Plant Journal 2 (2), 173-179) und Kartoffel (Frey et al., 1989, Molecular and General Genetics 217, 172-177; Knapp et al., 1988, Molecular and General Genetics 213, 285-290).

5

Grundsätzlich können die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen sowohl mit Hilfe homologer, als auch heterologer Transposons hergestellt werden, wobei unter Verwendung von homologen Transposons auch solche zu verstehen sind, die bereits natürlicherweise im entsprechenden Wildtyp-Pflanzengenom vorhanden sind.

10

15

20

25

Die T-DNA Insertionsmutagenese beruht darauf, dass bestimmte Abschnitte (T-DNA) von Ti-Plasmiden aus Agrobacterium in das Genom von pflanzlichen Zellen integrieren können. Der Ort der Integration in das pflanzliche Chromosom ist dabei nicht festgelegt, sondern kann an jeder beliebigen Stelle erfolgen. Integriert die T-DNA in einen Abschnitt des Chromosoms, der eine Genfuktion darstellt, so kann dieses zur Veränderung der Genexpression und damit auch zur Änderung der Aktivität eines durch das betreffende Gen codierte Protein führen. Insbesondere führt die Integration einer T-DNA in den codierenden Bereich eines Proteins häufig dazu, dass das entsprechende Protein von der betreffenden Zelle gar nicht mehr oder nicht mehr in aktiver Form synthetisiert werden kann. Die Verwendung von T-DNA Insertionen zur Erzeugung von Mutanten ist z.B. für Arabidopsis thaliana (Krysan et al., 1999, The Plant Cell 11, 2283-2290; Atipiroz-Leehan und Feldmann, 1997, Trends in genetics 13 (4), 152-156; Parinov und Sundaresan, 2000, Current Opinion in Biotechnology 11, 157-161) und Reis (Jeon und An, 2001, Plant Science 161, 211-219; Jeon et al., 2000, The Plant Journal 22 (6), 561-570) beschrieben. Methoden zur Identifizierung von Mutanten, die mit Hilfe der T-DNA Insertionsmutagenese erzeugt wurden, sind u.a. beschrieben von Young et al.,(2001, Plamt Physiology 125, 513-518), Parinov et al. (1999, The Plant cell 11, 2263-2270), Thorneycroft et al. (2001, Journal of Experimental Botany 52, 1593-1601), und McKinney et al. (1995, The Plant Journal 8 (4),613-622).

30

Die T-DNA Mutagenese ist grundsätzlich zur Erzeugung der erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine verminderte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, geeignet.

- Es wurde überraschenderweise gefunden, dass erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisieren im Vergleich zu Stärke von entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen.
- 10 Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke, die in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften, insbesondere dem Amylosegehalt bzw. dem Amylose/Amylopektin-·Verhältnis. dem Verzweigungsgrad, der durchschnittlichen Kettenlänge, der Seitenkettenverteilung, dem Viskositätsverhalten, der Gelfestigkeit. der 15 Stärkekorngröße und/oder der Stärkekornmorphologie im Vergleich zu in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. -Pflanzen synthetisierter Stärke verändert ist, so dass diese für spezielle Verwendungszwecke besser geeignet ist.

Daher umfasst die vorliegende Erfindung auch erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die eine modifizierte Stärke synthetisieren.

Ferner sind Gegenstand der Erfindung genetisch modifizierte Pflanzen, die erfindungsgemäße Pflanzenzellen enthalten. Derartige Pflanzen können durch Regeneration aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen erzeugt werden.

Bei den erfindungsgemäßen Pflanzen kann es sich prinzipiell um Pflanzen jeder beliebigen Pflanzenspezies handeln, d.h. sowohl um monokotyle als auch dikotyle Pflanzen. Bevorzugt handelt es sich um Nutzpflanzen, d.h. Pflanzen, die vom Menschen kultiviert werden für Zwecke der Ernährung oder für technische, insbesondere industrielle Zwecke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße Pflanze, eine stärkespeichernde Pflanze.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße stärkespeichernde Pflanzen der Gattung Solanum, insbesondere Solanum tuberosum.

Der Begriff "stärkespeichernde Pflanzen" umfasst alle Pflanzen mit stärkespeichernden Pflanzenteilen, wie z.B. Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste, Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse, oder Sorghum. Bevorzugte stärkespeichernde Pflanzenteile sind z.B. Knollen, Speicherwurzeln und Körner enthaltend ein Endosperm, besonders bevorzugt sind Knollen.

Der Begriff "Kartoffelpflanze" oder "Kartoffel" meint im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders Knollen produzierende Spezies der Gattung Solanum und insbesondere Solanum tuberosum.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch Vermehrungsmaterial erfindungsgemäßer Pflanzen, enthaltend eine erfindungsgemäße Pflanzenzelle.

20

25

5

10

15

Der Begriff "Vermehrungsmaterial" umfasst dabei jene Bestandteile der Pflanze, die geeignet sind zur Erzeugung von Nachkommen auf vegetativem oder sexuellem Weg. Für die vegetative Vermehrung eignen sich beispielsweise Stecklinge, Calluskulturen, Rhizome oder Knollen. Anderes Vermehrungsmaterial umfasst beispielsweise Früchte, Samen, Sämlinge, Protoplasten, Zellkulturen, etc. Vorzugsweise handelt es sich bei dem Vermehrungsmaterial um Samen und besonders bevorzugt um Knollen.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erntebare Pflanzenteile erfindungsgemäßer Pflanzen, wie Früchte, Speicherwurzeln, Wurzeln, Blüten, Knospen, Sprosse oder Stämme, vorzugsweise Samen oder Knollen, wobei diese erntebaren Teile mindestens eine erfindungsgemäße Pflanzenzelle enthalten.

5

10

25

Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Pflanze, worin

- a) eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
- b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und
- c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
- 15 Für die laut Schritt a) in die Pflanzenzelle eingeführte genetische Modifikation gilt, dass es sich grundsätzlich um jede Art von genetischer Modifikation handeln kann, die zur Verringerung der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3 führt.
- Die Regeneration der Pflanzen gemäß Schritt (b) kann nach dem Fachmann bekannten
 Methoden erfolgen (z.B. beschrieben in "Plant Cell Culture Protocols", 1999, edt. by
 R.D. Hall, Humana Press, ISBN 0-89603-549-2).
 - Die Erzeugung weiterer Pflanzen gemäß Schritt (c) des erfindungsgemäßen Verfahrens kann z.B. erfolgen durch vegetative Vermehrung (beispielsweise über Stecklinge, Knollen oder über Calluskultur und Regeneration ganzer Pflanzen) oder durch sexuelle Vermehrung. Die sexuelle Vermehrung findet dabei vorzugsweise kontrolliert statt, d.h. es werden ausgewählte Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften miteinander gekreuzt und-vermehrt.
- 30 in einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht die genetische Modifikation in der Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das

Genom der Pflanzenzelle, wobei das Vorhandensein oder die Expression besagten fremden Nucleinsäuremoleküls zu einer verringerten Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der Zelle führt.

5 Hinsichtlich der "Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls" gelten die im Zusammenhang mit erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen gemachten Ausführungen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren zur Erzeugung erfindungsgemäßer Kartoffelpflanzen verwendet.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;

15

20

25

- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
- c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO. 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder
 c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
 - f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannter Nucleinsäuremoleküle abweicht; und

g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

- a) DNA-Molekülen, die mindestens eine antisense-RNA codieren, welche eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
- b) DNA-Molekülen, die über einen Cosuppressionseffekt zu Verringerung der
 10 Expression von mindestens einem endogenen Gen führen, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
 - c) DNA-Molekülen, die mindestens ein Ribozym codieren, das spezifisch Transkripte von mindestens einem endogenen Gen spaltet, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert,
- d) DNA-Molekülen, die simultan mindestens eine antisense-RNA und mindestens eine sense-RNA codieren, wobei besagte antisense-RNA und besagte sense-RNA ein doppelsträngiges RNA-Molekül ausbilden, das eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert (RNAi Technologie);
- 20 Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer e) Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Verringerung Expression der eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese 25 von inaktiven Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge hat:
 - Ñucleinsäuremolekülen, die einen Antikörper codieren, wobei der Antikörper durch die Bindung an ein Verzweigungsenzym Klasse 3 eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 zur Folge hat,
- g) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, wobei die Integration dieser
 Transposons zu einer Mutation oder einer Insertion in mindestens einem

endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führt, welches eine Verringerung der Expression von mindestens einem ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzymen Klasse 3 zur Folge hat; und/oder

5 h) T-DNA Molekülen, die durch Insertion in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen eine Verringerung der Expression von mindestens einem Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen bewirken, oder die Synthese von inaktivem Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge haben.

10

20

25

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens synthetisieren die erfindungsgemäßen genetisch modifizierte Pflanzen im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältlichen Pflanzen.

Es ist auch Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Mittel, wie z.B. DNA Moleküle zur Erzeugung von erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen, die im Vergleich zu nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisieren, zur Verfügung zu stellen.

Somit betrifft die vorliegende Erfindung auch Nucleinsäuremoleküle codierend für ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, das die Aminosäuresequenz umfaßt, die von der Insertion in Plasmid DSM 15926 codiert wird;

- c) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Sequenz eine Identitä von mindestens 70% zu der unter SEQ ID NO 4 angegebener Aminosäuresequenz aufweisen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Sequenz eine Identitä
 von mindestens 70% zu der Aminosäuresequenz aufweist; die von der Insertior in Plasmid DSM 15926 codiert wird;
 - e) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- . f) Nucleinsäuremolekülen, die die Nucleotidsequenz der im Plasmid DSM 15926 enthaltenen Insertion umfassen;
 - g) Nucleinsäuremolekülen, welche zu den unter a), b), d) oder e) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 70% aufweisen;
 - h) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a), b), d), e) oder f) beschriebenen Nucleinsäuremolekülen unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
 - i) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetisches Codes von der Sequenz der unter a), b), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- j) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate 20 der unter a), b), c), d), e), f), g), h) oder i) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

Die in SEQ ID NO 4 dargestellte Aminosäuresequenz codiert ein Protein mit der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum*.

25

30

15

Die von den verschiedenen Varianten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu können z.B. biologische Aktivität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten, Sedimentationskoeffizienten,

Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

Das von der unter SEQ ID NO 4 dargestellten Aminosäuresequenz abgeleitete Molekulargewicht des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* beträgt ca. 103 kDa. Das abgeleitete Molekulargewicht eines erfindungsgemäßen Proteins liegt daher vorzugsweise im Bereich von 85 kDa bis 120 kDa, bevorzugt im Bereich von 95 kDa bis 110 kDa und besonders bevorzugt bei ca. kDa 100 bis 105 kDa.

5

10

Die vorliegende Erfindung betrifft Nucleinsäuremoleküle, die ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codieren, wobei das codierte Protein eine Identität von mindestens 70% bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und inbesondere bevorzugt von 95% zu der unter SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist.

Ein Plasmid enthaltend eine cDNA, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 von Solanum 15 tuberosum codiert, wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland. Die in SEQ ID NO 4 dargestellte Aminosäuresequenz kann von der codierenden Region der in Plasmid DSM 15926 integrierten cDNA Sequenz abgeleitet 20 werden und codiert für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Nucleinsäuremoleküle, die ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codieren, das die Aminosäuresequenz umfasst, die von der Insertion in Plasmid DSM 15926 codiert wird, wobei das codierte Protein eine Identität von mindestens 70% bevorzugt von 25 mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und inbesondere bevorzugt von 95% zu der Aminosäuresequenz, die von der Insertion in DSM 15926 abgeleitet werden kann, aufweist.

Die in SEQ ID NO 3 dargestellte Nucleinsäuresequenz ist eine cDNA Sequenz, die die codierende Region für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* umfaßt.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und die codierende Region der unter Seq ID NO 3 dargestellten Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen, Nucleinsäuremoleküle, die die codierende Region der Nucleotidsequenz der im Plasmid DSM 15926 enthaltenen Insertion umfassen und Nucleinsäuremoleküle, die zu den genannten Nucleinsäuremolekülen eine Identität von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% aufweisen.

5

10

15

20

25

30

Mit Hilfe der Sequenzinformation des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls bzw. mit Hilfe des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls ist es dem Fachmann nun möglich, homologe Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders bevorzugt aus Solanum tuberosum zu isolieren. Dies kann beispielsweise mit Hilfe konventioneller Methoden, wie dem Durchmustern von cDNA oder genomischen Banken mit geeigneten Hybridisierungsproben erfolgen. Dem Fachmann ist bekannt, dass die Isolierung homologer Sequenzen auch mit Hilfe von (degenerierten) Oligonukleotiden und der Verwendung von PCR basierten Methoden erflogen kann.

Auch die Durchmusterung von Datenbanken wie sie z.B. von EMBL (http://www.ebi.ac.uk/Tools/index.htm) oder NCBI (National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) zur Verfügung gestellt werden, kann zur identifizierung von homologen Sequenzen, die für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, dienen. Hierbei wird eine oder werden mehrere Sequenzen als sogenannte Abfrage (= query) vorgegeben. Diese Abfragesequenz wird dann mittels statistischen Computerprogrammen mit Sequenzen, die in den ausgewählten Datenbanken enthalten sind, verglichen. Solche Datenbankabfragen (z.B. blast oder fasta searches) sind dem Fachmann bekannt und können bei verschiedenen Anbietern durchgeführt werden.

Wird eine solche Datenbankabfrage z.B. beim NCBI (National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) durchgeführt, so sollen die Standardeinstellungen, die für die jeweilige Vergleichsanfrage vorgegeben sind, benutzt werden. Für Proteinsequenzvergleiche (blastp) sind dieses folgende Einstellungen:

5 Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 3; Matrix = BLOSUM62; Gap costs: Existence = 11, Extension = 1.

Für Nucleinsäuresequenzvergleich (blastn) sind folgende Parameter einzustellen: Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 11.

Bei einer solchen Datenbankrecherche können z.B. die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Sequenzen als Abfragesequenz (query) verwendet werden, um weitere Nucleinsäuremoleküle und/oder Proteine zu identifizieren, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren.

Mit Hilfe der beschriebenen Methoden ist es auch möglich, erfindungsgemäße Nucleinsäuremoleküle zu identifizieren und/oder zu isolieren, die mit der unter SEQ ID NO 3 angegebenen Sequenz hybridisieren und die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren.

Der Begriff "Hybridisierung" bedeutet im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Hybridisierung unter konventionellen Hybridisierungsbedingungen, vorzugsweise unter stringenten Bedingungen, wie sie beispielsweise in Sambrock et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) beschrieben sind. Besonders bevorzugt bedeutet "Hybridisierung" eine Hybridisierung unter den folgenden Bedingungen:

Hybridisierungspuffer: 2xSSC; 10xDenhardt-Lösung (Fikoll 400+PEG+BSA; Verhältnis 1:1:1); 0,1% SDS; 5 mM EDTA; 50 mM Na₂HPO₄; 250 μg/ml Heringssperma DNA; 50 μg/ml tRNA; oder

25 M Natriumphoshphatpuffer pH 7,2; 1 mM EDTA; 7% SDS

Hybridisierungstemperatur: T=65 bis 68°C

Waschpuffer:0,2xSSC; 0,1% SDS

30 Waschtemperatur: T=65 bis 68°C.

15

20

Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, können prinzipiell aus jeder beliebigen Pflanzenspezies stammen, die ein entsprechendes Protein exprimiert, vorzugsweise stammen sie aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum. Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Molekülen hybridisieren, können z.B. aus genomischen oder aus cDNA-Bibliotheken isoliert werden. Die Identifizierung und Isolierung derartiger Nucleinsäuremoleküle kann dabei unter Verwendung der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle oder Teile dieser Moleküle bzw. der reversen Komplemente dieser Moleküle erfolgen, z.B. mittels Hybridisierung nach Standardverfahren (siehe z.B. Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) oder durch Amplifikation mittels PCR.

5

10

15

20

25

30

Als Hybridisierungsprobe können z.B. Nucleinsäuremoleküle verwendet werden, die exakt die oder im wesentlichen die unter SEQ ID NO 3 angegebene Nucleotidsequenz oder Teile dieser Sequenz aufweisen. Bei den als Hybridisierungsprobe verwendeten Fragmenten kann es sich auch um synthetische Fragmente oder Oligonukleotide handeln, die mit Hilfe der gängigen Synthesetechniken hergestellt wurden und deren Sequenz im wesentlichen mit der eines erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls übereinstimmt. Hat man Gene identifiziert und isoliert, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuresequenzen hybridisieren, sollte eine Bestimmung der Sequenz und eine Analyse der Eigenschaften der von dieser Sequenz codierten Proteine erfolgen, um festzustellen, ob es sich um ein Verzweigungsenzym Klasse 3 handelt. Hierzu eignen sich insbesondere Homologievergleiche auf der Ebene der Nucleinsäure- oder Aminosäuresequenz sowie die Bestimmung der enzymatischen Aktivität. Die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 kann z.B. wie oben beschrieben durch Expression in E. coli Stämmen, die selbst kein aktives Verzweigungsenzym exprimieren, erfolgen (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301); Guan et al., 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. 92, 964-967).

-Die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisierenden Moleküle umfassen insbesondere Fragmente, Derivate und allelische Varianten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus

Pflanzen, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum codieren. Der Begriff "Derivat" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Sequenzen dieser Moleküle sich von den Sequenzen der oben beschriebenen Nucleinsäuremoleküle an einer oder mehreren Positionen unterscheiden und einen hohen Grad an Identiät zu diesen Sequenzen aufweisen.

Die Abweichungen zu den oben beschriebenen Nucleinsäuremolekülen können dabei z.B. durch Deletion, Addition, Substitution, Insertion oder Rekombination entstanden sein.

10

20

25

30

5

Identität bedeutet ferner, dass funktionelle und/oder strukturelle Äguivalenz zwischen den betreffenden Nucleinsäuremolekülen oder den durch sie codierten Proteinen, besteht. Bei den Nucleinsäuremolekülen, die homolog zu den oben beschriebenen Molekülen sind und Derivate dieser Moleküle darstellen, handelt es sich in der Regel um Variationen dieser Moleküle, die Modifikationen darstellen, die dieselbe biologische Funktion ausüben. Es kann sich dabei sowohl um natürlicherweise auftretende Variationen handeln, beispielsweise um Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies oder um Mutationen, wobei diese Mutationen auf natürliche Weise aufgetreten sein können oder durch gezielte Mutagenese eingeführt wurden. Ferner kann es sich bei den Variationen um synthetisch hergestellte Sequenzen handeln. Bei den allelischen Varianten kann es sich sowohl um natürlich auftretende Varianten handeln, als auch um synthetisch hergestellte oder durch rekombinante DNA-Techniken erzeugte Varianten. Eine spezielle Form von Derivaten stellen z.B. Nucleinsäuremoleküle dar, die auf Grund der Degeneration des genetischen Codes von erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen abweichen.

Die von den verschiedenen Derivaten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu könner z.B. biologische Aktivität, Substratspezifität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten

Sedimentationskoeffizienten, Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

Die erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle können beliebige Nucleinsäuremoleküle sein, insbesondere DNA- oder RNA-Moleküle, beispielsweise cDNA, genomische DNA, mRNA etc. Sie können natürlich vorkommende Moleküle sein, oder durch gentechnische oder chemische Syntheseverfahren hergestellte Moleküle. Sie können einzelsträngige Moleküle sein, die entweder den codierenden oder den nicht codierenden Strang enthalten, oder doppelsträngige Moleküle.

10

15

20

25

30

5

Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Nucleinsäuremoleküle von mindestens 21, vorzugsweise mehr als 50 und besonders bevorzugt mehr als 200 Nucleotiden Länge. die spezifisch mit mindestens einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül hybridisieren. Spezifisch hybridisieren bedeutet hierbei, dass diese Moleküle mit Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, die ein erfindungsgemäßes Protein codieren, jedoch nicht mit Nucleinsäuremolekülen, die andere Proteine codieren. Insbesondere betrifft die Erfindung solche Nucleinsäuremoleküle, die mit Transkripten von erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisieren und dadurch Translation verhindern können. Solche Nucleinsäuremoleküle, die spezifisch mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, können beispielsweise Bestandteile von antisense-, RNAi-, Cosuppressions-Konstrukten oder Ribozymen sein oder können als Primer für die Amplifikation mittels PCR verwendet werden.

Der Begriff "Identität" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Sequenzidentität über die gesamte Länge der codierenden Region von mindestens 60%, insbesondere eine Identität von mindestens 70%, vorzugsweise über 80%, besonders bevorzugt über 90% und insbesondere von mindestens 95%. Unter dem Begriff "Identität" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Anzahl der übereinstimmenden Aminosäuren/Nucleotide (Identität) mit anderen Proteinen/Nucleinsäuren, ausgedrückt in Prozent verstanden werden. Bevorzugt wird die Identität durch Vergleiche der Seq. ID NO 4 oder SEQ ID NO 3 zu anderen

Proteinen/Nucleinsäuren mit Hilfe von Computerprogrammen ermittelt. Weisen Sequenzen, die miteinander verglichen werden, unterschiedliche Längen auf, ist die Identität so zu ermitteln, dass die Anzahl an Aminosäuren, welche die kürzere Sequenz mit der längeren Seguenz gemeinsam hat, den prozentualen Anteil der Identität bestimmt. Vorzugsweise wird die Identität mittels der bekannten und der Öffentlichkeit zur Verfügung stehenden Computerprogramms ClustalW (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680) ermittelt. ClustalW wird öffentich zur Verfügung gestellt von Julie Thompson (Thompson@EMBL-Heidelberg.DE) und Toby Gibson (Gibson@EMBL-Heidelberg.DE), European Molecular Biology Meyerhofstrasse 1, D 69117 Heidelberg, Germany. ClustalW kann ebenfalls von verschiedenen Internetseiten, u.a. beim IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, B.P.163, 67404 Illkirch Cedex, France; ftp://ftp-igbmc.ustrasbg.fr/pub/) und beim EBI (ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/software/) sowie bei allen gespiegelten Internetseiten des EBI (European Bioinformatics Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK), heruntergeladen werden.

5

10

15

20

30

Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die Identität zwischen erfindungsgemäßen Proteinen und anderen Proteinen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen: KTUPLE=1, TOPDIAG=5, WINDOW=5, PAIRGAP=3, GAPOPEN=10, GAPEXTEND=0.05, GAPDIST=8, MAXDIV=40, MATRIX=GONNET, ENDGAPS(OFF), NOPGAP, NOHGAP.

Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die Identität zwischen z.B. der Nucleotidsequenz der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle und der Nucleotidsequenz von anderen Nucleinsäuremolekülen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen:

25 KTUPLE=2, TOPDIAGS=4, PAIRGAP=5, DNAMATRIX:IUB, GAPOPEN=10, GAPEXT=5, MAXDIV=40, TRANSITIONS: unweighted.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können grundsätzlich aus jeder Pflanze stammen, vorzugsweise stammen sie aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders bevorzugt aus Solanum tuberosum.

Weiterhin betrifft die Erfindung Vektoren, insbesondere Plasmide, Cosmide, Viren, Bacteriophagen und andere in der Gentechnik gängige Vektoren, die die oben beschriebenen erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle enthalten.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die in den Vektoren enthaltenen erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle verknüpft mit regulatorischen Sequenzen, die die Expression in prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen gewährleisten. Der Begriff "Expression" kann dabei Transkription als auch Transkription und Translation bedeuten. Die erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle können dabei zu den regulatorischen Sequenzen in "sense"-Orientierung, und/oder in "antisense"-Orientierung vorliegen.

Regulatorische Sequenzen zur Expression in prokaryontischen Organismen, z.B. *E. coli*, und in eukaryontischen Organismen sind ausreichend in der Literatur beschrieben, insbesondere solche zur Expression in Hefe, wie z. B. *Saccharomyces cerevisiae*. Eine Übersicht verschiedener Systeme zur Expression für Proteine in verschiedenen Wirtsorganismen findet man z. B. in Methods in Enzymology 153 (1987), 383-516 und in Bitter et al. (Methods in Enzymology 153 (1987), 516-544).

- Zur Expression der Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, in sense- und/oder antisense-Orientierung in pflanzlichen Zellen werden diese vorzugsweise mit regulatorischen DNA-Sequenzen verknüpft, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten. Hierzu zählen insbesondere Promotoren. Generell kommt für die Expression jeder in pflanzlichen Zellen aktive Promotor in Frage.
- Der Promotor kann dabei so gewählt sein, dass die Expression konstitutiv erfolgt oder nur in einem bestimmten Gewebe, zu einem bestimmten Zeitpunkt der Pflanzenentwicklung oder zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt. Sowohl in Bezug auf die Pflanze als auch in Bezug auf das Nucleinsäuremolekül kann der Promotor homolog oder heterolog sein.
- 30 Geeignete Promotoren sind z.B. der Promotor der 35S RNA des Cauliflower Mosaic Virus und der Ubiquitin-Promotor aus Mais für eine konstitutive Expression, der

Patatingen-Promotor B33 (Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) für eine knollenspezifische Expression in Kartoffeln oder ein Promotor, der eine Expression lediglich in photosynthetisch aktiven Geweben sicherstellt, z.B. der ST-LS1-Promotor (Stockhaus et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 7943-7947; Stockhaus et al., EMBO J. 8 (1989), 2445-2451) oder für eine endosperm-spezifische Expression der HMG-Promotor aus Weizen, der USP-Promotor, der Phaseolinpromotor, Promotoren von Zein-Genen aus Mais (Pedersen et al., Cell 29 (1982), 1015-1026; Quatroccio et al., Plant Mol. Biol. 15 (1990), 81-93), Glutelin-Promotor (Leisy et al., Plant Mol. Biol. 14 (1990), 41-50; Zheng et al., Plant J. 4 (1993), 357-366; Yoshihara et al., FEBS Lett. 383 (1996), 213-218) oder Shrunken-1 Promotor (Werr et al., EMBO J. 4 (1985), 1373-1380). Es können jedoch auch Promotoren verwendet werden, die nur zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt aktiviert werden (siehe beispielsweise WO 9307279). Von besonderem Interesse können hierbei Promotoren von heat-shock Proteinen sein, die eine einfache Induktion erlauben. Ferner können samenspezifische Promotoren verwendet werden, wie z.B. der USP-Promoter aus Vicia faba, der eine samenspezifische Expression in Vicia faba und anderen Pflanzen gewährleistet (Fiedler et al., Plant Mol. Biol. 22 (1993), 669-679; Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet. 225 (1991), 459-467).

Ferner kann eine Terminationssequenz (Polyandenylierungssignal) vorhanden sein, die der Addition eines Poly-A-Schwanzes an das Transkript dient. Dem Poly-A-Schwanz wird eine Funktion bei der Stabilisierung der Transkripte beigemessen. Derartige Elemente sind in der Literatur beschrieben (vgl. Gielen et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) und sind beliebig austauschbar.

25

5

10

15

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung Vektoren, die DNA Moleküle enthalten, die mindestens eine antisense-RNA codieren, welche eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das eir Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.

In einer weiteren speziellen Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung Vektoren, die DNA-Moleküle enthalten, die über einen Cosuppressionseffekt zu Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen führen, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.

5

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung Vektoren, die DNA-Moleküle enthalten, die mindestens ein Ribozym codieren, das spezifisch Transkripte von mindestens einem endogenen Gen spaltet, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.

10

15

20

30

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung Vektoren, die DNA-Moleküle enthalten, die simultan mindestens eine antisense-RNA und mindestens eine sense-RNA codieren, wobei besagte antisense-RNA und besagte sense-RNA ein doppelsträngiges RNA-Molekül ausbilden, das eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert (RNAi Technologie).

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Wirtszelle, insbesondere eine prokaryontische oder eukaryontische Zelle, die genetisch modifiziert ist mit einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül und/oder mit einem erfindungsgemäßen Vektor, sowie Zellen, die von derartigen Wirtszellen abstammen und die die erfindungsgemäße genetische Modifikation enthalten.

In einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung Wirtszellen, insbesondere prokaryontische oder eukaryontische Zellen, die mit einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül oder einem erfindungsgemäßen Vektor transformiert wurden, sowie Wirtszellen, die von derartigen Wirtszellen abstammen und die beschriebenen erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle oder Vektoren enthalten.

Die-Wirtszellen können Bakterien- (z.B. E. coli) oder Pilzzellen (z.B. Hefe, insbesondere S. cerevisiae, Agaricus, insbesondere Agaricus bisporus), sowie pflanzliche oder tierische Zellen sein. Der Begriff "transformiert" bedeutet dabei, dass die

erfindungsgemäßen Zellen mit einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül genetisch modifiziert sind insofern, als sie zusätzlich zu ihrem natürlichen Genom mindestens ein erfindungsgemäßes Nucleinsäuremolekül enthalten. Dieses kann in der Zelle frei, gegebenenfalls als selbstreplizierendes Molekül, vorliegen oder es kann stabil in das Genom der Wirtszelle integriert vorliegen.

Vorzugsweise sind die Wirtszellen Mikroorganismen. Darunter werden im Rahmen der vorliegenden Anmeldung alle Bakterien und alle Protisten (z. B. Pilze, insbesondere Hefen und Algen) verstanden, so wie sie z. B. in Schlegel "Allgemeine Mikrobiologie" (Georg Thieme Verlag (1985), 1-2) definiert sind.

10

15

20

Besonders bevorzugt sind die erfindungsgemäßen Wirtszellen Pflanzenzellen. Dabei kann es sich prinzipiell um Pflanzenzellen aus jeder beliebigen Pflanzenspezies handeln, d. h. sowohl monokotyle als auch dikotyle Pflanzen. Bevorzugt handelt es sich um Pflanzenzellen aus landwirtschaftlichen Nutzpflanzen, d.h. aus Pflanzen, die vom Menschen kultiviert werden für Zwecke der Ernährung oder für technische, insbesondere industrielle Zwecke. Vorzugsweise betrifft die Erfindung Pflanzenzellen und Pflanzen aus stärkespeichernden Pflanzen (Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste, Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse oder Sorghum), insbesondere besondere bevorzugt sind Pflanzenzellen aus Mais-, Reis-, Weizen- oder Kartoffelpflanzen.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Proteine mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

- 25 a) Proteinen, die die unter SEQ ID NO 4 angegebene Aminosäuresequenz umfassen;
 - b) Proteinen, die durch die codierende Region der im Plasmid DSM 15926 inserierten DNA codiert werden; oder
- c) Proteinen, die zu der Aminosäuresequenz der unter a) oder b) genannten Proteine eine Identität von mindestens 70% aufweisen.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung Proteine mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, wobei das codierte Protein eine Identität von mindestens 70% bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und inbesondere bevorzugt von 95% zu der unter SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz oder zu der von der Insertion in Plasmid DSM 15926 codierten Aminosäuresequenz eines Verzweigungsenzym Klasse 3 aufweist.

5

15

20

25

10 Die Erfindung betrifft in einer weiteren Ausführungsform auch Proteine, die durch erfindungsgemäße Nucleinsäuremoleküle codiert werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, wobei das Verzweigungsenzym Klasse 3 aus einer Kartoffelpflanze stammt.

Es wurde überraschenderweise gefunden, dass Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine reduzierte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, eine Stärke synthetisieren, die modifiziert ist im Vergleich zu Stärke aus Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen.

Der Begriff "modifizierte Stärke" bedeutet in Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke veränderte physico-chemische Eigenschaften gegenüber nicht modifizierter Stärke, erhältlich aus entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen oder Wildtyp-Pflanzen aufweist.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der modifizierten Stärke um native Stärke.

Der Begriff "native Stärke" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke nach dem Fachmann bekannten Methoden aus erfindungsgemäßen

Pflanzen, erfindungsgemäßem erntebaren Pflanzenteilen oder erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial von Pflanzen isoliert wird.

Stärke ist ein klassischer Zusatzstoff für viele Nahrungsmittel, in denen sie im wesentlichen die Funktion des Bindens von wässrigen Zusatzstoffen übernimmt bzw. eine Erhöhung der Viskosität oder aber eine erhöhte Gelbildung hervorruft. Wichtige Eigenschaftsmerkmale sind das Fließ- und Sorptionsverhalten, die Quell- und Verkleisterungstemperatur, die Viskosität und Dickungsleistung, die Löslichkeit der Stärke, die Transparenz und Kleisterstruktur, die Hitze-, Scher- und Säurestabilität, die Neigung zur Retrogradation, die Fähigkeit zur Filmbildung, die Gefrier/Taustabilität, die Verdaulichkeit sowie die Fähigkeit zur Komplexbildung mit z.B. anorganischen oder organischen Ionen.

5

10

15

20

25

30

Im Bereich der Nicht-Nahrungsmittelindustrie kann die Stärke z.B. als Hilfsstoff für unterschiedliche Herstellungsprozesse bzw. als Zusatzstoff in technischen Produkten eingesetzt werden. Bei der Verwendung der Stärke als Hilfsstoff ist hier insbesondere die Papier- und Pappeindustrie zu nennen. Die Stärke dient dabei in erster Linie zur Retardation (Zurückhaltung von Feststoffen), der Abbindung von Füllstoff- und Feinstoffteilchen, als Festigungsstoff und zur Entwässerung. Darüber hinaus werden die günstigen Eigenschaften der Stärke in bezug auf die Steifigkeit, die Härte, den Klang, den Griff, den Glanz, die Glätte, die Spaltfestigkeit sowie die Oberflächen ausgenutzt.

Ein weiterer großer Einsatzbereich der Stärken besteht in der Klebstoffindustrie, wo man die Einsatzmöglichkeiten in vier Teilbereiche gliedert. Die Verwendung als reinem Stärkeleim, die Verwendung bei mit speziellen Chemikalien aufbereiteten Stärkeleimen, die Verwendung von Stärke als Zusatz zu synthetischen Harzen und Polymerdispersionen sowie die Verwendung von Stärken als Streckmittel für synthetische Klebstoffe.

Weiterhin können die Stärken als Zusatz zu Baustoffen (z.B. Gipskartonplatten, Transportbeton, Putz- und Mineralfasern), zur Herstellung von Mitteln zur Bodenstabilisation, als funktionelles Hilfsmittel in Pflanzenschutz- oder Düngemitteln als funktionelle Hilfsmittel in der Pharma- (z.B. als Bindemittel, Tablettensprengmittel, ir Gleit- und Wundpudern) und Kosmetikindustrie (als Träger von Zusatzstoffen), als

Stärkezusatz zu Kohlen und Briketts, als Flockungsmittel (z.B. bei der Kohleschlammaufbereitung) und als Bindemittel, z.B. in Betonit, verwendet werden.

Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke im Vergleich zu Stärke von entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. -Pflanzen. Die modifizierte Stärke ist in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften, z.B. dem Amylopektin/Amylose Verhältnis, dem Verzweigungsgrad, dem Phosphatgehalt, der durchschnittlichen Kettenlänge, dem Viskositätsverhalten, der Stärkekorngröße, der Seitenkettenverteilung und/oder der Stärkekornform im Vergleich zu in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. -Pflanzen synthetisierter Stärke verändert, so dass sie für die Verwendung z.B. in bestimmten Anwendungsgebieten besser geeignet ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch modifizierte Stärken, erhältlich aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen, aus erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial oder aus erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen.

15

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung 20 modifizierte Kartoffelstärken.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke, umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle oder einer erfindungsgemäßen Pflanze, aus erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial einer solchen Pflanze und/oder aus erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen einer solchen Pflanze, vorzugsweise aus erfindungsgemäßen stärkespeichernden Teilen einer Pflanze. Vorzugsweise umfasst ein solches Verfahren auch den Schritt des Erntens der kultivierten Pflanzen bzw. Pflanzenteile und/oder des Vermehrungsmaterials dieser Pflanzen vor der Extraktion der Stärke und besonders bevorzugt ferner den Schritt der Kultivierung erfindungsgemäßer Pflanzen vor dem Ernten.

5

10

15

20

25

Verfahren zur Extraktion der Stärke aus Pflanzen oder von stärkespeichernden Teilen von Pflanzen sind dem Fachmann bekannt. Weiterhin sind Verfahren zur Extraktion der Stärke aus verschiedenen stärkespeichernden Pflanzen beschrieben, z. B. in Starch: Chemistry and Technology (Hrsg.: Whistler, BeMiller und Paschall (1994), 2. Ausgabe, Academic Press Inc. London Ltd; ISBN 0-12-746270-8; siehe z. B. Kapitel XII, Seite 412-468: Mais und Sorghum-Stärken: Herstellung; von Watson; Kapitel XIII, Seite 469-479: Tapioca-, Arrowroot- und Sagostärken: Herstellung; von Corbishley und Miller; Kapitel XIV, Seite 479-490: Kartoffelstärke: Herstellung und Verwendungen; von Mitch; Kapitel XV, Seite 491 bis 506: Weizenstärke: Herstellung, Modifizierung und Verwendungen; von Knight und Oson; und Kapitel XVI, Seite 507 bis 528: Reisstärke: Herstellung und Verwendungen; von Rohmer und Klem; Maisstärke: Eckhoff et al., Cereal Chem. 73 (1996), 54-57, die Extraktion von Maisstärke im industriellen Maßstab wird in der Regel durch das sogenannte "wet milling" erreicht.). Vorrichtungen, die für gewöhnlich bei Verfahren zur Extraktion von Stärke von Pflanzenmaterial verwendet sind Separatoren, Dekanter, Hydrocyclone, Sprühtrockner und werden. Wirbelschichttrockner.

Unter dem Begriff "stärkespeichernde Teile" sollen im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung solche Teile eine Pflanze verstanden werden, in welchen Stärke, im Gegensatz zu transitorischer Blattstärke, zur Überdauerung von längeren

Zeiträumen als Depot gespeichert wird. Bevorzugte stärkespeichernde Teile sinc Knollen, Speicherwurzeln, Samen oder Endosperm, besonders bevorzugt sinc Kartoffelknollen oder das Endosperm von Mais-, Weizen- oder Reispflanzen.

5 Modifizierte Stärke, erhältlich durch das erfindungsgemäße Verfahren, ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Weiterhin ist die Verwendung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßer Pflanzen zur Herstellung einer modifizierten Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Dem Fachmannn ist bekannt, dass die Eigenschaften von Stärke durch z.B. thermische chemische, enzymatische oder mechanische Derivatisierung verändert werden können Derivatisierte Stärken sind für verschiedene Anwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich besonders geeignet. Die erfindungsgemäßen Stärken sind als Ausgangssubstanz besser geeignet zur Herstellung von derivatisierten Stärken als herkömmliche Stärken. Sie zeichnen sich bei Herstellung von derivatisierter Stärke durch eine bessere Verarbeitbarkeit aus und führen zu neuen Produkten, da zur Derivatisierung eine modifizierte Stärke als neuer Ausgangsstoff eingesetzt wird.

20

10

15

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung eine derivatisierten Stärke, worin erfindungsgemäße modifizierte Stärke, nachträglich derivatisiert wird.

Unter dem Begiff "derivatisierte Stärke" soll im Zusammenhang mit der vorliegender Erfindung eine erfindungsgemäße modifizierte Stärke verstanden werden, derer Eigenschaften nach der Isolierung aus pflanzlichen Zellen mit Hilfe von chemischen enzymatischen, thermischen oder mechanischen Verfahren nachträglich veränder wurde.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der erfindungsgemäßen derivatisierten Stärke um Hitze und/oder Säurebehandelte Stärke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeether, insbeondere um Stärke-Alkylether, O-Allylether, Hydroxylalkylether, O-Carboxylmethylether, stickstoffhaltige Stärkeether, phosphathaltige Stärkeether oder schwefelhaltige Stärkeether.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um vernetzte Stärken.

10 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärke-Pfropf-Polymerisate.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um oxidierte Stärken.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeester, insbesondere um Stärkeester, die unter Verwendung von organischen Säuren in die Stärke eingefürhrt wurden. Besonders bevorzugt handelt es sich um Phosphat-, Nitrat-, Sulfat-, Xanthat-, Acetat- oder Citratstärken.

Die erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken eignen sich für verschiedene Verwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich. Methoden zur Herstellung von erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken sind dem Fachmann bekannt und in der allgemeinen Literatur ausreichend beschrieben. Eine Übersicht zur Herstellung von derivatisierten Stärken findet sich z.B. bei Orthoefer (in Corn, Chemistry and Technology, 1987, eds. Watson und Ramstad, Chapter 16, 479-499).

25

15

20

Derivatisierte Stärke, erhältlich nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Ferner ist die Verwendung erfindungsgemäßer modifizierter Stärken zur Herstellung von derivatisierter Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Beschreibung der Sequenzen

SEQ ID NO 1: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 3'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 46-196 inseriert.

SEQ ID NO 2: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 5'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 47-196 inseriert.

10

15

20

25

5

SEQ ID NO 3: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 49 inseriert und wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland.

SEQ ID NO 4: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist von der in Plasmid AN 49 inserierten Nucleinsäuresequenz bzw. von der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar.

SEQ ID NO 5: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum (cv Désirée). Diese Sequenz wurde erhalten durch Zusammenfügen der unter SEQ ID NO 1 und SEQ ID NO 2 beschriebenen Nucleinsäureseguenzen. Diese Nucleinsäureseguenz stellt eine allelische Variante der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, dar.

30 SEQ ID NO 6: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum (cv Désirée). Diese Sequenz ist. von der unter SEQ ID NO 5

beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar und stellt die Aminosäuresequenz einer allelischen Variante zu der unter SEQ ID NO 4 beschriebenen Aminosäuresequenz, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 dar.

Allgemeine Methoden

In den Beispielen wurden die folgenden Methoden verwendet:

Nachweis der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3

5 Der Nachweis der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese wurde wie folgt durchgeführt :

Zur Isolierung von Proteinen aus Pflanzen wurde das Probenmaterial in flüssigem Stickstoff gemörsert, in Extraktionspuffer (50 mM Na-Citrat, pH 6.5; 1 mM EDTA, 4 mM DTT) aufgenommen und nach Zentrifugation (10 min, 14.000 g, 4 °C) direkt zur Messung der Proteinkonzentration nach Bradford eingesetzt. Anschließend wurde je nach Bedarf 5µg bis 20 µg Gesamt-Proteinextrakt mit 4-fach Loading-Buffer (20%)

Glycerin, 125 mM Tris HCl, pH 6,8) versetzt und auf ein BE-Aktivitätsgel geladen. Das

BE-Aktivitätsgel setzt sich wie folgt zusammen: 2,5 ml 30% Acrylamid:0,8% Bisacrylamid, 0,1 ml Laufpuffer, 7,4 ml H₂O, 10% Ammoniumpersulfat-Lösung und 5 μ N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin (TEMED). Der Laufpuffer (RB) setzte sich wie folg zusammen: RB = 30,2 g Tris-Base, pH 8.0, 144 g Glycine auf 1 L H₂O. Nach Beendigung des Gellaufes wurden die Gele in je 25 ml "Phosphorylase – Puffer" (25 m 1M Na-Citrat pH 7,0, 0,47 g Glucose-1-Phosphat, 12,5 mg AMP, 2,5 mg Phosphorylase a/b aus "rabbit") über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Färbung der Gele wurde mi

20 Lugol'sche Lösung durchgeführt.

Beispiele

10

15

Beispiel 1

25 Klonierung einer Vollängensequenz codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum

Die Gensequenz codierend für dieses Verzweigungsenzym Klasse 3 ist in *Solanur* tuberosum bisher noch nicht beschrieben worden.

Über Sequenzvergleiche mit verschiedenen Verzweigungsenzymen konnte eine Domäne identifiziert werden, mit deren Hilfe EST-Datenbanken durchmustert wurden. Hierbei konnte der EST TC73137 (TIGR Datenbank; http://www.tigr.org/tigr-scripts/tgi/tc_report.pl?tc=TC73137&species≈potato) aus Kartoffel identifiziert werden.

Mit Hilfe der Primer B1_Asp (GAT GGG TAC CAG CAC TTC TAC TTG GCA GAG G) und B2_Sal (TCA AGT CGA CCA CAA CCA GTC CAT TTC TGG) konnte eine zu dieser EST-Sequenz korrespondierende Sequenz aus einer knollespezifischen cDNA-Bank von Solanum tuberosum (cv. Désirée) amplifiziert werden. Versuche, blattspezifische, "sink"- oder "source"-Gewebe spezifische cDNA-Banken als Template für die PCR Reaktion zu verwenden, führten zu keinem Amplifikat.

Um die gesamte codierende Sequenz des betreffenden Verzweigungsenzyms, die auch bisher unbekannte Sequenzen umfasst, zu amplifizieren, wurden Primer hergestellt, die zu den Enden der bisher bekannten Sequenz und Vektorsequenzen der betreffenden cDNA Banken komplememtär sind. Bei allen mittels dieses Ansatzes verwendeten Primerkombinationen zur Amplifikation einer vollänge Sequenz eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, konnte kein weiterer Bereich amplifiziert werden. Daraufhin wurden EST-Datenbanken von Tomate erneut durchmustert.

15

20

Hierbei konnten zwei ESTs aus Tomate identifiziert werden (TIGR Datenbank; BG127920 und TC130382), .die entweder eine hohe Homologie zu dem oben beschriebenen Amplifikat des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Kartoffel (TC130382) bzw. (BG127920). oder zu dem putativen Verzweigungsenzym Gen aus Arabidopsis (Genbank: GP|9294564|dbj|BAB02827.1) aufweisen.

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um auch bisher unbekannte Sequenzen des Verzweigungsenzyms Klasse 3 zu amplifizieren. Mittels PCR wurde aus einer cDNA Bank, hergestellt aus Knollen von Solanum tuberosum (cv. Désirée), mit den Primern KM2_Spe (5'-TCAAACTAGTCACAACCAGTCCATTTCTGG-3') und So_putE (5'-CACTTTAGAAGGTATCAGAGC-3') der 3'-Bereich des Verzweigungsenzyms Klasse 3 amplifiziert. Das erhaltende ca. 1 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene

Plasmid wurde als AN 46-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 46-196 ist unter SEQ ID NO 1 dargestellt.

Der 5'-Bereich wurde ebenfalls mittels PCR-Technik und unter Verwendung der Primer So_put5' (5'-GTATTTCTGCGAAGGAACGACC-3') und So_putA (5'-AACAATGCTCTCTGTCGG-3') aus der selben cDNA-Bank amplifiziert. Das erhaltende ca. 2 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene Plasmid wurde als AN 47-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 47-196 ist unter SEQ ID NO 2 dargestellt.

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um eine Vollängensequenz zu amplifizieren. Folgende Primer wurden verwendet: SO_putA (AACAATGCTCTCTGTCGG) und SO_putE (CACTTTAGAAGGTATCAGAGC). Ein ungefähr 3,2 kb großes PCR-Produkt wurde erhalten und in den pCR2.1-Vektor der Firma Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das erhaltene Plasmid (hinterlegt unter DSM 15926) wurde mit AN 49 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 49 ist unter SEQ ID NO 3 dargestellt.

20 Beispiel 2

5

10

15

25

Angaben zu Vektoren und Plasmiden

Angaben zum Vektor AN 54-196

AN 54-196 ist ein Derivat des Plasmides pBinB33-Hyg, welchem eine Teilsequenz des Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens als "inverted repeat" ,(RNAi Technologie) unter de Kontrolle des Promotors des Patatin Gens B33 aus *Solanum tuberosum* (Rocha-Sosa et al., 1989) eingefügt wurde. Hierzu wurde zuerst ein PCR-Produkt mit den Primerr B1_Asp (GAT GGG TAC CAG CAC TTC TAC TTG GCA GAG G) und B2_Sal (TCA AGT CGA CCA CAA CCA GTC CAT TTC TGG) aus einer knollenspezifischen cDNA

Bank von Solanum tuberosum (cv. Désirée) amplifiziert, wodurch die Schnittstellen Asp718 und Sall zugefügt wurden. Das erhaltene PCR-Produkt (625 bp) wurde über diese beiden Schnittstellen in "antisense" Orientierung zum B33-Promotor kloniert. Ein zweites PCR-Fragment, welches mit den Primern B3_Sal (GCT TGT CGA CGG GAG AAT TTT GTC CAG AGG) und B4_Sal (GAT CGT CGA CAG CAC TTC TAC TTG GCA GAG G) aus einer knollenspezifischen cDNA Bank von Solanum tuberosum (cv. Désirée) amplifiziert wurde und mit dem 301 bp des ersten Fragments identisch ist, wurde über die Sall-Schnittstelle hinter das erste Fragment kloniert, jedoch in "sense"-Orientierung zum B33-Promotor. Diese Anordnung wird als "inverted repeat" (RNAi Technologie) bezeichnet.

Angaben zum Vektor pBinB33-Hyg

5

10

15

20

Ausgehend vom Plasmid pBinB33 wurde das *Eco*RI-*Hind*III-Fragment umfassend den B33-Promotor, einen Teil des Polylinkers sowie den *ocs*-Terminator herausgeschnitten und in den entsprechend geschnittenen Vektor pBIB-Hyg ligiert (Becker, 1990).

Das Plasmid pBinB33 wurde erhalten, indem der Promotor des Patatin Gens B33 aus Solanum tuberosum (Rocha-Sosa et al., 1989) als Dral-Fragment (Nukleotide –1512 - +14) in den mit Sstl geschnittenen Vektor pUC19, dessen Enden mit Hilfe der T4 DNA-Polymerase geglättet worden waren, ligiert wurde. Daraus entstand das Plasmid pUC19-B33. Aus diesem Plasmid wurde der B33-Promotor mit EcoRl und Smal herausgeschnitten und in den entsprechend geschnittenen Vektor pBinAR ligiert. Hieraus entstand der pflanzliche Expressionsvektor pBinB33.

Das Plasmid pBinAR ist ein Derivat des Vektorplasmids pBin19 (Bevan, 1984) und wurde folgendermaßen konstruiert:

Ein 529 Bp langes Fragment, das die Nukleotide 6909-7437 des 35S RNA-Promotors des Blumenkohl-Mosaik-Virus (Pietrzak et al., 1986, Nucleic Acids Research 14, 5857-5868) umfasst, wurde als *EcoRl/Kpnl-*Fragment aus dem Plasmid pDH51 (Pietrzak et al., 1986) isoliert und zwischen die *EcoRl-* und *Kpnl-*Schnittstellen des Polylinkers von pUC18 ligiert. Dabei entstand das Plasmid pUC18-35S.

Aus dem Plasmid pAGV40 (Herrera-Estrella et al., 1983) wurde mit Hilfe der Restriktionsendonukleasen *Hind*III und *Pvu*II ein 192 Bp langes Fragment isoliert, welches das Polyadenylierungssignal (3'-Ende) des *Octopin Synthase*-Gens (Gen 3) der T-DNA des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., 1984) umfasst (Nukleotide 11749-11939). Nach Addition von *Sspl*-Linkern an die *Pvu*II-Schnittstelle wurde das Fragment zwischen die *Sph*I- und *Hind*III-Schnittstelle von pUC18-35S ligiert. Daraus resultierte das Plasmid pA7.

Aus pA7 wurde der gesamte Polylinker enthaltend den 35S-Promotor und den ocs-Terminator mit EcoRI und HindllI herausgeschnitten und in den entsprechend geschnittenen pBin19 ligiert. Dabei entstand der pflanzliche Expressionsvektor pBinAR (Höfgen and Willmitzer, 1990).

Beispiel 3

5

10

20

25

15 <u>Genetisch modifizierte Pflanzen mit verringerter Verzweigungsenzym</u> Klasse 3 Aktivität

Zur Erzeugung transgener Kartoffelpflanzen, die eine verringerte Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens aufweisen, wurde die T-DNA des Plasmids AN 54-196 mit Hilfe von Agrobakterien, wie bei Rocha-Sosa et al. (EMBO J. 8, (1989), 23-29) beschrieben, in Kartoffelpflanzen der Varietät Désirée transferiert. Die durch Transformation mit dem Plasmid AN 53-196 erhaltenen Pflanzen der Varietät Désirée wurden mit 369SO bezeichnet.

Die Analyse mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese von Protein-Extrakten aus Knollen von Wildtyp-Pflanzenzellen und/oder Protein-Extrakten von genetisch modifizierten Pflanzen (396-SO), zeigte dass die genetisch modifizierten Pflanzenzellen eine verringerte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, im Vergleich zu Protein-Extrakten aus Knollen von Wildtyp-Pflanzenzellen.

15

25

30

Patentansprüche

- 1. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine verringerte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen aufweist.
- 2. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 1, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle besteht.
- 3. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 2, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.
 - 4. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 3, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
 - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID No. 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
 - b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
 - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID No. 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
 - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
 - f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
 - g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

5. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 2, 3 oder 4, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

5

10

15

20

25

- a) DNA-Molekülen, die mindestens eine antisense-RNA codieren, welche eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
- DNA-Molekülen, die über einen Cosuppressionseffekt zu Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen führen, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
- c) DNA-Molekülen, die mindestens ein Ribozym codieren, das spezifisch Transkripte von mindestens einem endogenen Gen spaltet, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert,
- d) DNA-Molekülen, die simultan mindestens eine antisense-RNA und mindestens eine sense-RNA codieren, wobei besagte antisense-RNA und besagte sense-RNA ein doppelsträngiges RNA-Molekül ausbilden, das eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert (RNAi Technologie);
- e) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Verringerung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge hat;
- f) Nucleinsäuremolekülen, die einen Antikörper codieren, wobei der Antikörper durch die Bindung an ein Verzweigungsenzym Klasse 3 eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 zur Folge hat,
- g) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, wobei die Integration dieser Transposons zu einer Mutation oder einer Insertion in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führt, welches eine Verringerung der Expression von mindestens einem ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzymen Klasse 3 zur Folge hat; und/oder

- T-DNA Molekülen, die durch Insertion in mindestens einem endogenen h) Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen eine Verringerung der Expression von mindestens einem Verzweigungsenzym Klasse codierenden Gen bewirken. oder die Synthese von inaktivem Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge haben.
- Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 5, die im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen eine modifizierte Stärke synthetisiert.
- 7. Pflanze enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 10 8. Pflanze nach Anspruch 7, die eine stärkespeichernde Pflanze ist.
 - 9. Pflanze nach Anspruch 8, die eine Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste, Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse oder Sorghum Pflanze ist.
 - 10. Pflanze nach Anspruch 8, die eine Kartoffelpflanze ist.

- 11. Vermehrungsmaterial von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
 - 12. Erntebare Pflanzenteile von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche1 bis 6.
 - 13. Verfahren zur Herstellung einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, worin
- a) eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
 - b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und
- 25 c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
 - 14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanze besteht.

- 15. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremdes Nukleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
 - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID No. 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;

10

15

20

- c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID No. 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
 - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
 - f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
 - g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.
- 16. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
 - a) DNA-Molekülen, die mindestens eine antisense-RNA codieren, welche eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;
 - b) DNA-Molekülen, die über einen Cosuppressionseffekt zu Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen führen, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert;

- c) DNA-Molekülen, die mindestens ein Ribozym codieren, das spezifisch Transkripte von mindestens einem endogenen Gen spaltet, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert,
- d) DNA-Molekülen, die simultan mindestens eine antisense-RNA und mindestens eine sense-RNA codieren, wobei besagte antisense-RNA und besagte sense-RNA ein doppelsträngiges RNA-Molekül ausbilden, das eine Verringerung der Expression von mindestens einem endogenen Gen bewirkt das ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert (RNAi Technologie);

10

15

20

- e) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Verringerung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge hat;
- f) Nucleinsäuremolekülen, die einen Antikörper codieren, wobei der Antikörper durch die Bindung an ein Verzweigungsenzym Klasse 3 eine Verringerung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 zur Folge hat,
- g) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, wobei die Integration dieser Transposons zu einer Mutation oder einer Insertion in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führt, welches eine Verringerung der Expression von mindestens einem ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt, oder die Synthese von inaktiven Verzweigungsenzymen Klasse 3 zur Folge hat; und/oder
- T-DNA Molekülen, die durch Insertion in mindestens einem endogenen h) Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen eine Verringerung der Expression mindestens von einem Verzweigungsenzym Klasse codierenden Gen bewirken. oder die Synthese inaktivem von Verzweigungsenzym Klasse 3 zur Folge haben.
- 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 17, wobei die genetisch modifizierte
 30 Pflanze im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten WildtypPflanzen eine modifizierte Stärke synthetisiert.

- 18. Nucleinsäuremolekül codierend für ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID No. 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen
 Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 70% zu der unter SEQ ID
 NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
 - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID No. 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, welche zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 70% aufweisen;
 - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a), oder c) beschriebenen Nucleinsäuremolekülen unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a) oder c) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und

- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.
- 19. Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass es ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Kartoffel codiert.
- 20. Vektor enthaltend ein Nucleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 18 oder 19.
- Vektor nach Anspruch 20, wobei das Nucleinsäuremolekül mit regulatorischen
 Sequenzen verknüpft ist, die die Transkription in prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen gewährleisten.
 - 22. Vektor enthaltend ein fremdes Nucleinsäuremolekül, definiert wie in Anspruch 5 unter a), b), c) oder d).

- 23. Wirtszelle, die genetisch modifiziert ist mit einem Nucleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 18 oder 19 oder mit einem Vektor nach einem der Ansprüche 20, 21 oder 22.
- 24. Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - a) Proteinen, die die unter SEQ ID No. 4 angegebene Aminosäuresequenz umfassen, oder
 - b) Proteinen, die zu der Aminosäuresequenz der unter a) genannten Proteine eine Identität von mindestens 70% aufweisen.
- 25. Protein nach Anspruch 24, wobei das Verzweigungsenzym Klasse 3 aus einer Kartoffelpflanze stammt.
 - 26. Modifizierte Stärke erhältlich aus einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, aus Vermehrungsmaterial nach Ansprüch 11, oder aus erntebaren Pflanzenteilen nach Ansprüch 12.
- 27. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
 - 28. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, und/oder aus stärkespeichernden Teilen einer solchen Pflanze.
- 29. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus erntebaren Pflanzenteilen nach Anspruch 12.
 - 30. Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke, worin modifizierte Stärke nach Anspruch 26 oder erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 27, 28 oder 29 derivatisiert wird.
- 25 31. Verwendung von genetisch modifizierten Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10 zur Herstellung einer modifizierten Stärke.
 - 32. Modifizierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 27, 28 oder 29.
 - 33. Derivatisierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach Anspruch 30.

34. Verwendung von modifizierter Stärke nach einem der Ansprüche 26 oder 32 zul Herstellung von derivatisierter Stärke.

Zusammnefassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Pflanzenzellen und Pflanzen, die genetisch modifiziert sind, wobei die genetische Modifikation zur Verringerung der Aktivität eines pflanzlichen Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von Stärkederivaten dieser Stärke. Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung Nucleinsäuren, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, Vektoren, Wirtszellen, Pflanzenzellen und Pflanzen enthaltend solche Nucleinsäuremoleküle.

SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.
APU_THETU	1251-1331	Q9XED2	101-191
GLGB SYNY3	22-110	Q08131	137-227
P71095	39-130	GLGB HUMAN	73-168
Q9RXB0	181-274	Q9V6K7	52-144
PULA KLEPN	301-395	Q22137	53-147
P70983	1143-1238	Q9RM63	25-149
Q41386	205-298	ISOA_FLASP	36-163
O64454	202-295	ISOA_PSEAY	30-155
Q69008	105-191	P73608	22-122
O34587	104-189	O04196	74-177
Q9XDB5	231-319	Q9SPT7	8-110
PULA THEMA	223-311	Q41742	114-218
Q59319	206-300	GLGX_HAEIN	10-101
YIEL ECOLI	41-123	Q9RNH5	20-117
Q9RX51	22-100	GLGX_ECOLI	9-104
O66936	24-116	Q9RXP5	13-108
Q59832	141-233	GLGX_MYCTU	24-119
GLGB_STRAU	160-252	Q9X947	18-113
GLGB_BUTFI	24-116	P72691	19-120
GLGB_AGRTU	130-223	P95868	17-117
Q9RQI5	134-226	O84046	11-108
GLGB_ECOLI	122-214	Q9Z8F5	11-108
GLGB_HAEIN	122-214	Q9ZVT2	232-335
GLGB_SYNY3	126-217	Q44528	2-83
GLGB_MYCTU	127-223	Q9X2G0	276-357
Q9RTB7	26-115	Q9X2G0	15-98
GLGB_BACSU	23-115	Q45643	46-114
Q59242	23-115	Q9X2G0	126-217
O84874	117-209	TREZ_ARTSQ	5-90
O49185	62-153	TREZ_MYCTU	2-68
GLGB_YEAST	59-153	Q55088	1-79
Q9Y8H3	47-147	Q53641	1-79

Tabelle 1 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.
AMYM_BACLI MALZ_ECOLI APU_THESA APU_THEET CDAS_THEET NEPU_BACST AMYM_BACAD AMY2_DICTH MALT_AEDAE MAL2_DROME MAL3_DROME MAL3_DROME MAL1_DROME MAXS_YEAST MAYS_YEAST TREC_ECOLI TREC_BACSU O16G_BACSP O16G_BACCE DEXB_STRMU AMY_BACME AMY3_DICTH AMY_STRLI CDGT_KLEPN	137-479 128-522 393-821 390-820 136-494 139-497 139-497 138-470 29-425 30-432 31-428 35-420 17-441 22-446 21-443 15-414 16-418 11-420 13-419 13-394 44-406 39-381 77-520 47-463	CDG1_PAEMA CDGT_BACOH AMYB_PAEPO AMYA_ASPOR AMY1_DEBOC AMY1_SACFI AMY1_ECOLI ISOA_PSEAY AMY_BUTFI AMY_BACSU AMY_THECU AMY_STRHY AMY_STRGR AMY_ALTHA AMYA_AERHY AMYA_AERHY AMYA_DROME AMY1_AERHY AMY4_PSESA AMY2_ECOLI AMY_BACLI AMY_BACAM AMT6_BACS7 AMY3_WHEAT	46-426 44-420 751-1107 34-390 49-405 40-396 193-611 209-652 126-520 41-383 40-392 37-360 35-372 28-373 26-369 26-413 29-396 22-379 38-387 12-402 34-420 34-420 34-426 26-348
AMYM_BACST CDGT_BACST AMYR_BACS8	46-430 47-425 46-425	AM3A_ORYSA AMYA_VIGMU AM2A_ORYSA	29-367 24-361 23-366

Tabelle 2 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Alpha-Amylase Domäne (PF 00128) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

															4	:	-			33/3	-249		316	-249		-3936	-249	,	8611	-249	į	-5877	-249		161	-249		
															-1998	:	}			1852	-294		43	-294	į	4594	-294		2002	-294		166	-294		-3582	-294		
															384	:	>			-2330	-369		-1619	-369	;		-369	i	4107-	-369	į	9009	-369	,	343	-369		
		-											-		201	ı	_		- !	159	117		-593	117	. !	387	117	;	SCI-	117	•	4943	117		-3237	117		
															531	('n			-111-	320		-924	329	. !	545	329		-1/33	328		4652	328		-560	329		
															45) (ĸ			-1058	စ္တ		-2737	98		105	98		43/6	98		-5049	9		-4397	6		
															-313		ø			-3877	45		241	45		-172	45		4199	45		-3886	45		4218	45		
															-21		Ω.,			2303	394		9	394		2668	394	į	4871	394	!	-5515	394		1 9	394		
															-142		z			4157	275		-1115	275		-2653	275		4465	275		-3689	275		-4485	275		
															-1085		Σ			739	-720		463	-720		-3486	-720		1112	-720		-5732	-720		-2327	-720		1/9
															905					-2763	466		78	-466		-1032	466		2525	4		-643	466		- 59	466		Tabelle 3, Blatt 1/9
															249		×	9 - E		4218	210	*	373	210	•	1255	210	*	4575	210	*	-1174	210	*	4593	210	*	Tabelle
													4		197		_	E^-4		-2412	-626	32	-1609	-626	•	-1878	-626	•	8 59	-626	*	47	-626	*	-635	-626	*	
													-8455		-1158		I	₽ Y		-3427	106	-1378	-2632	106	-1378	-313	106	-1378	-3692	1 08	-1378	4321	106	-1378	-3713	106	-1378	
													4		453		တ	E^P		4575	399	-701	1339	333	-701	499	333	-701	-2106	339	-70	3551	330	-70	-1817	399	-701	
													-8455		-294		u.	<u> </u>		312	-381	-1115	635	-381	-1115	-1199	-381	-1115	2143	-381	-1115	-6643	-381	-1115	482	-381	-1115	
													-1000		338		ш	E 1		4583	43	-894	1534	43	-894	88 49	43	-894	-1809	43	-894	-753	43	-834	-1558	43	8 94	
				ED.ann	S.ann								-1000		85		۵	₽ ~ E	-5527	-5203	233	11703	455	233	11899	-2899	233	.11958	-5615	233	.11958	-1172	233	11983	-5632	233	11983	
				s.ann SE									4	-8455	-1558	19	ပ	Έ		-2912	-500	10660	4276	200	10857	4386	200	10916	-3101	-200	10916	-6327	-500	10941	446	-200	10941	
				HMM	eseed								-8455		595	À	∢	m->m	-32	433																-149		
Silling Silling	2	00	yes	hmmbuild -F HMM Is.ann SEED.ann	hmmcalibrate -seed o nivily_is.am	92		3012	2 0	.5 2.3	323	2121				-56.839790				-	. ,		·	٠.	٠	m	•	•	4	•		S		•	g	•	•	
ב ב			MAP		E 000	NSEQ 6	DATE	CKCLIMA		S. A. S.	2	S C	֖֭֓֞֝֞֜֝֞֝֝֓֓֓֞֝֝֓֓֓֞֝֝֓֓֓֓֡֝		NE	EVO.	HWM																					

Tabelle 3 Angaben zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922)

HMMERR2.0 (2.3.1)
NAME isoamylase_N
ACC PF02922
DESC isoamylase N-term

7 8	e	1 2	5	4t 5t	16	8	6	8
-3981 -249 -2394 -249	380 -249 -15 -249	-3345 -249 -2959 -249	-3831 -249	-1529 -249 -2315 -249	-5237 -249 -2410 -249	-3260 -249	-266 -249	-771 -249
-4653 -294 -294 -294	-4365 -294 -294 -294	4026 -294 -3637 -294	-4646 -294	-1876 -294 -2998 -294	-5331 -294 -3046 -294	-3933 -294	4172 -294	4659 -294
312 -369 834 -369	-577 -369 -1189 -369	-888 -369 -3067 -369	-4063 -369	1517 -369 -289 -369	335 -369 -369	2044 -369	-1409 -369	4098 -369
1327 117 -1672 117	-340 117 -514 117	-855 117 912 117	2401	-1503 117 -1284 117	-2415 117 -1440 117	459	470	117
428 359 -1606 359	144 359 164 359	-2257 359 -621 359	-2580 359	-2162 359 -1224 359	816 359 -1401 359	-2196 359	203 359	359
-67 96 168 96	-268 -268 -268 -268	-2097 96 96 -253 96	-2778 96	-2591 96 -1068 96	-4699 96 -1233 96	-2044 96	-585 -86 -86	434 88
-102 45 -1158	1174 45 -1590 45	775 45 738 45	823 45	-2380 45 683 45	4449 45 -729 45	-1495 45	395 45	186 45
-4102 394 1637 394	-1346 394 1626 394	230 394 -3064 394	-3560 394	-3139 394 -2408 394	477 394 1166 394	-3378 394	-1034 394	394 394
1206 275 -4198 275	244 275 -2026 275	448 275 1275 275	1207 275	-2663 275 1507 275	-3556 275 -1122 275	353 275	1770 275	-12 275
-169 -720 -2400 -720	-3267 -720 -2963 -720	-2931 -720 2049 -720	-3642 -720	1929 -720 -1903 -720	-4214 -720 -1944 -720	-2833 -720	-3078 -720	-3565 -720
4467 466 603 466	322 466 -1843 466	-1532 -466 -1423 -466	4468 466	-141 -466 -2828 -466	-5141 -466 -2816 -466	-1513 -466	4005	-4492 -3: -466 -: 9 3, Blatt 2/9
210 210 -159 210	-1953 210 -458 210	467 210 389 389 210	2156 210	2718 210 499 210	4947 210 210 210	1272 210	805 210	627 210 * Tabelle
-580 -626 346 -626	-626 -3935 -626	-1276 -626 -810 -626	4550 -626	1265 -626 -2880 -626	-4858 -626 -2783 -626	-3779 -626	-4060 -626	-696 -626 *
3316 106 -1378 -3587 106	-1378 276 106 -106 -2048	-59 -2009 106 -709 1139	41 -2276 106	-33 1869 106 1306 106	4399 4399 106 -1158 106	168 108 108	-2148 106	-196 -106 -2654
399 -701 4749 399	-701 -1316 399 -3823 1176 399	4637 836 399 -1364 -553	-5168 892 399	-5452 -398 -398 -5563 -240 -240	3282 3282 329 -2384 -2427 339	399 399 1909 1909	399	2552 399 -250
-1229 -381 -1115 1372 -381	-1115 -4483 -381 -1115 -4188 -381	-1115 -810 -381 -1115 -3762	-1115 -4735 -381	-1115 -1379 -381 -1115 -381 -381	-5091 -3091 -3091 -3091 -3091	404 1381 2811	-381 -381	-1213 -381 -1115
183 43 -894 -841	894 43 43 894 43 43 43	-894 1314 43 -894 -1300 43	-894 2261 43	-894 1196 43 -894 288 288 43	-894 -5046 -5046 -894 -894 -43	\$ 4 4 8 4 4 4 8 4 4 8	2 4 2 2	506 43 894 43
-2893 233 -11983 -5058 233	-2276 1665 233 -2164 616 233	-5043 1826 233 -931 1648 233	-1751 -1367 233	-2404 -3700 -3700 -233 -2298 -233	.4483 4788 233 -698 -1292 -233	-9845 1692 233 -11137	418 418 233 5558	233 233 -11959
-4458 -500 -10941 -3201 -500	-10941 121 -500 -10608 -3873 -500	-10244 -3841 -500 -10201 -500	-9739 -4407 -500	-9232 1322 -500 -8931 -2813 -500	-8846 -2556 -500 -8903 -2772 -500	-8803 -3738 -500 -10095	-3988 -500 -500 -500	-4476 -500 -10917
-1172 -149 -149	-335 -554 -149 -365 -149	46 -149 -1075 -847 -149	-511 -2797 -149	305. - 88. - 90. - 134. - 149.	-139 -1947 -149 -1391 -149	-165 -149 -49	500 - -149	-904 -904 -149
r,,,,	. 6 6 .		. 6.	14 1 12 1	17 - 16		. o .	50

21	23	23	24	25	1	/2	58	59	8	33	32	83	34	35
512 -249	444 -249	1564 -249	531 -249	265 -249	-249	-5256 -249	-4985 -249	700 -249	-5893 -249	-834 -249	-866 -249	-4988 -249	910 -249	-5607 -249
1631 -294	-4694 -294	-3659 -294	-4578 -294	-3750 -294 5535	-294	392 -294	-5617 -294	4755 -294	-6500 -294	4739 -294	122 -294	-5365 -294	4745 -294	-5892 -294
2518 -369	714	440 -369	-3897 -369	2623 -369	-369	-4553 -369	4961 -369	-682 -369	-1832 -369	-788 -369	-1807 -369	3460 -369	-1017 -369	2356 -369
2145	1578 117	-3321	896 117	117	117	117	-1675 117	1414	4321	1202	-638 117	4511	976	-5011
4006 359	-1028 359	-1974 359	501 359	359	328	2037 359	697 359	-822 359	178 359	-590 359	470 359	-5634 359	1507 359	-6367 359
4478 96	1656 96	-1411 96	2409 96	4588	96	4834 96	-1215 96	-1460 96	-4921 96	1235 96	1510 96	-2134 96	962 96	-6803 96
4301	-2312 45	-4306 45	-2403 45	4386	45	-4560 45	-3175 45	261 45	-1072 45	1892 45	င်း 4	-5948 45	413 45	-6529 45
-543 394	4189 394	4977 394	-1077 394	394	394	-5320 394	3730 394	4166 394	-811 394	4151 394	-1906 394	-6412 394	4169 394	-6949 394
4567 275	1974 275	4572 275	-2834 275	4654 275	275	-1206 275	-3477 275	2138 275	-1004 275	-983 275	1027 275	-6118 275	-2714 275	-6804
-2403 -720	-3587 -720	-2409 -720	-3447 -720	-2465	-2343 -720	-4458 -720	4564 -720	-3661 -720	-5432 -720	-863 -720	-3661 -720	-433 -720	-3649 -720	-3458 720 3/9
-1338 -466	4488 -466	-325 -466	-2327 -466	1669 -466	-283 466	-1991 -466	-5465 -466	4587	-6303 -466	-2673 -466	-2337	-1110 466	-2183 -466	2467 -3-466 -3-3, Blatt 3/9
4678 210	450 210	4684 210	963 210	4761	-/815 210 *	-1677 210	-1616 210	-74 210	4423 210	1147 210	352 210	-6240 210	587 210	-6901 210 Tabelle
980 -626	406	432 -626	-1804 -626	-1194 -626 -	-626 -626 •	-4952 -626	-5508 -626 *	-2129 -626	-6257 -626	-993 -626	4643	-626 -626	-1791 -626	540 -626 *
-3792 106	-1378 -526 106	-1378 -3796 106	-1378 -2821 106	-1378 -3887 106 -1378	4102 106 1378	4712 106 -1378	-3603 106	2269 106 1378	4534 106	-1378 -2716 106	4 5 5 5 5	-5600 -5600 -106	24 2 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-1378 -6387 106 -1378
-1893 399	-701 -4097 399	-704 -2056 399	-701 4149 399	-701 -5013 -701	-1893 399 -701	4813 399 -701	399	336 398 457	-2136 399	399	389	. 98 389 54 54 54	389	-707- -1604 399 -707-
433	-1115 190 -381	-1115 3969 -381	-1115 -4550 -381	-115 -116 -381 -1115	2064 -381 -1115	-5332 -381 -1115	-381	-381 -381 -381	-381	-381 -381	-381	24.4 28.4	. 8 % E	-1115 -1252 -381 -1115
-5083 43	-894 -132 43	-894 -5089 43	-894 -2546 43	934 43 43	-1924 43 -894	4910 43	43 55	\$ 6 4 §	-1527 -43	\$ 55 \$ 54 \$ 55 \$ 55 \$ 55 \$ 55 \$ 55 \$ 55	954 43 84 8	-894 -6525 -43	\$ 85 CA	-894 -7120 -7120 -894
-5719 233	-12065 -1380 233	-12065 -5724 233	-12065 -1346 233	-12065 -1253 233 -12065	-7990 233 -12065	-5323 233 -12065	.3578 .233	-12065 -945 -233	-3960 -3960 233	233 233 233 233	233	-12065 -7042 233	-12065 -156 233	-12065 -7592 233 -12065
-3200	-11023 -4488 -500	-11023 -3207 -500	-11023 1196 -500	-11023 -3277 -500 -11023	-6573 -500 -11023	4354 -500	4943	-11023 -4571 -500 -500	-5080 -5080 -500	4555 4555 -500 -500	-500	-11023 36 -500	-11023 -4558 -500	-11023 -4635 -500 -11023
-903 -149	-1 -1902 -149	-1 -1835 -149	-1 1377 -149	-1482 -149 -149	-7635 -149 -1	2849 -149	-149 -149	- 38 - 149 - 149	3362 -149	-18 -1049 -149	. 331 -149	922 -149	-1 619 -149	-2161 -149 -1
21	22.	. 8 .	. 4 .	. 55	56	27	2 8 .	. 60 .	. o .	٠ ٤ .	. 2 .	. ພ ເ	34.	. ທ , . ຕ

36	37	38	39	40	4	42	43	4	46	47	48	49	20
-218 -249	-3925 -249	2201 -249	-4072 -249	-4075 -249	96 -249	-263 -249	-2869 -249	-2292 -246	-2736 -249	-3708 -249	361 -249	50 -249	-4067 -249
-3666	-294 -294	-4386 -294	-4755 -294	4758 -294	189 -294	-3757 -294	-3552 -294	-2974 -295	-3646 -294	5255 -294	4303 -294	1382 -294	-294 -294
1652 -369	945 -369	-1060 -369	-1613 -369	-4196 -369	-678 -369	-3195 -369	-979 -369	-338 -370	-3025 -369	-1471 -369	495 -369	-242 -369	-369 -369
194	-1925 117	-667 117	-637	-302	459	735	45	269	-1715 117	117	-2712 117	819	117
-1302 359	4605 359	914 359	55 359	-914 359	-398 359	504 ·	-1778 359	644 359	-1382 359	-2625 359	-137 359	-1260 359	359
-1396 96	-5089 96	-3095 96	-1098 96	-1400 96	-215 96	-1822 96	-284 96	447 95	-1954 96	645 96	-2546 96	-654 96	1235 96
-1129 45	-4899 45	-1254 45	-2272 45	-2273 45	-772 45	-1275 45	1860 45	494 48	-734 45	-385 45	383 45	159 45	1003
4956 394	-5523 394	-198 394	-4166 394	1201 394	194 394	-267 394	-226 394	333	2482 394	-1213 394	394 394	461 394	4169 394
-4518 275	-5161 275	-282 275	-715 275	3036 275	2273 275	1007 275	77.1 275	897 275	1962 275	-2355 275	1492 275	-2734 275	536 275
. 44 -720	-2773 -720	-3222 -720	-3660 -720	-3664 -720	-3593 -720	-2663 -720	-2457 -720	-1880 -721	-2733 -720	-3291 -720	-3186 -720	-3612 -720	1409 -720 4/9
248 466	1969 -466	-1377 -466	4587 -466	-1673 -466	-2300 -466	-1313 -466	-100 466	-2805 -466	-3463 466	-1027 -466	-2023 -466	-1569 -466	-1440 1-466 -3, Blatt 4/9
140 210	-5277 210	-2644 210	210	367 210	-2246 210	-50 210	-1111 210	1750 210	-1203 210	689 210	-2051 210	210	-725 210 Tabelle
1189 -626	-501	-1027 -626	4642	-4646 -626	4574 -626	-3645 -626	-3438 -626	-2859 -627	-3545 -626	-4263 -626	-615 -626	-242 -626	-119 -626 *
-248 106	-4436 106	-1378 -2937 106	578 570 106	-1378 -2733 106	1065 1065 106	-134 -134 -134 -134 -134 -134 -134 -134	5 6 5 E	55 53	-28 -1077 106	.2026 303 106	1342	4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	-1378 885 106 -1378
399	399	-707 -919 -919 -919	399 399	-701 -1946 399	1166 399 399	1158 399	1508 399	398 398	-5694 -1761 -399	-407 -3717 -399	3775	25 88 55 88 55 85 85 85 85 85 85 85 85 85	. 399 399 107-
-388 -381	- 38. - 38.	-1115 1807 -381	-1115 3174 -381	-1115 -4895 -381	-1115 -4824 -381	-3894 -381	-1115 -3688 -381	381 381 381 381	-3659 -381	-1115 -4517 -381	-384	381	-381 -381 -1115
4985 43	-5655 -43	42 4 68 4 68 4 68 4 68 4 68 4 68 4 68 4	\$ 4 E	8 8 8 8 8 8	\$ 24 E	89 89 43 89 43	558 438 643 643	629 43 64 64	<u>අ</u> ස් ය	\$ 50 \$ 50 \$ 50 \$ 50 \$ 50 \$ 50 \$ 50 \$ 50	\$ 5 ² 5 5	\$ E & S	1388 43 494 -894
-1721 233	-6262 -6262 233	2121 2121 233	-12065 1686 233	-12065 362 233	23 4 58 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-326 1431 233	-2622 980 233	-1256 642 232	-638 2437 233	-1535 -915 233	2253 233 233	-11683 -1114 233	-12065 -1116 233 -12065
2801 -500	-11023 -3659 -500	-1023 -4080 -500 -500	-11023 -4571 -500	-11023 -4574 -500	-11023 -4504 -500	-3574 -500	-9872 -3368 -500	-9617 -2780 -500	-1761 -3285 -500	-7357 -4200 -500	-1000 -500 -500	4516 506-	-11023 -4560 -500 -11023
557 -149	-1 -924 -149	-3164 -3164 -149	-1 -1317 -149	-1 584 -149	4. 149 149	-1080 -1080 -149	-258 -1897 -149	-786 -1320 -145	-1645 -149	-624 -2743 -149	-1155 -149	-1 656 -149	-3100 -149 -1
წ '	. 6.	် က (က	. ດ . ຕ	. 0 ,	. 4 .	. 2 .	. 6.	. 4 .	. 4.	. 4	. 4 .	4 , & ,	4

51		53	3		E.	3		i	ጿ			22			9			27			ထ္ထ			ည			8			<u></u>			8			8			9			
-4062	-249	285	249	?	4074	970	247	;	798	-249		충	-249		183	-249		-2486	-249		1915	-249		-1370	-249		4413	-249		-3676	-249		-3773	-249		-203	-249		421	-249		
4739	-284	-3814	294	}	4757		±07.		-3668	-294		4755	-294		4347	-28 4		-3108	-294		-2676	-294		-1816	-294		4095	-294	,	4359	-294		4459	-294		4687	-294		4953	-294		
-254	-369	1148	0 t 2 t	3	250	9 6	200		-593	-369 -369		260	-369		-1625	-369		-2441	-369		-2134	999		886	-369		479	-369		-978	-369		-3897	-369		4126	-369		4391	-369		
1279	117	- 5	117	•	7		= 1		-3320	117		1286	117		-1052	117		714	117		-1082	117		1429	117		-2380	117		-1303	117		1896	117		-837	117		-3684	117		
554	329	3740	350	3	833	3 6	200		400 4	328		-880 -880	328		493	320		1536	328		-1002	328		-1199	329		-1067	328		165	328		-881	328		636	328		-3660	328		
930	96	79	ទី មី	3	910	2 8	ŝ		4465	98		903	96		1913	98		930 830	98		-717	98		1512	98		1057	9		1682	8		-2526	8		-30 4	98		-3662	96		
-814	45	722	, , ,	?	1442	1	5		-4279	45		4	45		-1943	45		8 94	45		-257	42		-782	45		-1615	2		- 602	45		-1969	45		7	45		-1258	45		
4171	394	4776	2 6	}	2005	200	3		4971	394		29	394		1315	394		-2738	394		-2097	394		-2299	394		366	394		-3770	394		-1321	394		-329	394		4754	394		
-1344	275	F36	204 275	2	220	2 5	C/2		-4550	275		-2708	275		-768	275		-1326	275		-560	275		-1180	275		1723	275		976	275		-246	275		1620	275		1368	275		
869	-720	9676	0/07-	3	2002	2002	77		4259	-720		-3661	-720		-372	-720		-1982	-720		-1648	-720		1503	-720		-3000	-720		-3265	-720		-3366	-720		-3593	-720		-746	-720		5/9
-2538	466	ccc	352	3	7500	000	9		1632	466		-4587	466		-594	466		713	466		-2508	466		99	466		-227	466		-577	466		4291	466		4520	466		4786	466		3, Blatt 5/9
-1301	210	• 6	3 5	•	607	3	212	•	-1610	210	•	1364	210	•	1748	210	•	201	210	•	1066	210	•	-882	210	•	1236	210	*	391	210	•	-1103	210	•	-1074	210	*	-3155	210	•	Tabelle
-824	-626	• 1007	2051 2051	970	2707	040	979	•	-2702	-626	•	-1841	-626	•	4166	-626	*	-330	-626	•	-2535	-626	•	-1010	-626	*	-3980	-626	•	-923	-626	*	-1328	-626	*	4575	-626	*	4688	-626	•	
-2738	106	-1378	3032	220	2 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	7617-	2	-1378	-3789	106	-1378	1453	106	-1378	392	106	ဓ္	-1317	106	69	-678	108	-1 84	-963	106	-1100	1889	106	417	-235	106	456	-2427	106	-2136	-313	106	-2966	-502	106	-1378	
-1149	333	-701	4712	9 5	5 6	200	388	<u>-</u> 70	-4921	399	-701	-1716	333	-701	-3731	338	4109	918	333	4411	1477	339	-3061	-2223	338	906-	-1517	330	-1209	825	366	-1882	133	333	-373	1699	388	-198	3185	399	-70	
4860	-381	-1115	439		0 0	4830 CES	 	-1115	-243	-381	-1115	4892	-381	-1115	415	-381	-1115	-3099	-381	-1115	-2771	-381	-1115	-1461	-381	-1115	-610	-381	-1115	-4496	-38 18	-1115	-4595	-381	-1115	1410	-381	-1115	-707	-381	-1115	
1773	43	-834	404 404 404	3 5	o o o	200	43	-894	-1804	43	-894	1153	43	-894	504	43	-894	-1035	43	-894	1978	43	-894	-1034	43	-894	615	43	-894	-249	43	-89 4	1673	43	894	<u>é</u>	43	-894	-2956	43	-894	
-708	233	-12065	-1879	35,5	CON71-	Ş	233	-12065	-1623	233	-12065	654	233	-2038	-2622	233	-700	129	233	-524	-524	233	-796	1440	233	-9232	36	233	4270	1427	233	4214	2377	233	-11668	216	233	-11990	403	233	-12065	
-115	-500	-11023	-3382	200	-11023	45/3	8	-11023	-3213	200	-11023	4571	-500	-11023	-4145	-200	-10620	-2867	-200	-9243	-2513	-200	-7810	-1426	-500	-8190	-3911	-200	-10278	4175	900	-10580	4275	-500	-10626	4504	-200	-10947	4838	-200	-11023	
941	-149	7	450	-149	T :	-1952	-149	•	-1019	-149	•	-1227	-149	404	-2745	-149	-1381	-1634	-149	-1723	-1133	-149	-1253	-994	-149		-2441	-149	-78	-272	-149	쥳	-713	-149	•	443	-149	7	-1102	-149	7	
5 0		•	51	•	• ;	2 2	•		53	•	•	5 4	•		5 2	•		56	•	•	5 7	•	•	58	•	•	5	•	•	0 9	•		6 1			62	•	•	63	•		

Tabelle 3, Blatt 5/9

65	99	29	89	69	2	7	72	73	75	92	78	79	8	6
674 -249	1346 -249	-4055 -249	-3338	1250 -249	-3395 -249	-249	-3369 -249	-2272 -250	-3243	-5028 -250	-1309	-845 -249	-3384 -249	-249
1942 -294	6021 -294	-4735 -294	1543 -294	-4629 -294	163 -294	-294	-4052 -294	-2953 -296	-4061 -294	-4854 -296	-1672 -294	-495 -294	2649 -294	-294 -294
2648 -369	-6724 -369	-1784 -369	1675 -369	1122 -369	2065 -369	4196 -369	-1418 -369	-2385 -368	-3409 -369	-368 -368	633 369	2 48 89 89 89	820 -369	4194 -369
105	-7532 117	956 117	-68 117	1595	-1271	664 117	-203 117	-1245 116	989	-3663 118	-1206 117	284 117	-1758 117	172
359	-7179 359	1595 359	-4028 359	411 359	4083 359	-922 359	-774 359	1120 359	-1905 359	-3491 363	228 359	-213 359	-1080 359	-661 359
-4477 96	-7320 96	-312 96	4500 96	-22 96	4556 96	-1334 96	131 96	-1030 95	-2288 96	-3154 95	-2112 96	-2683 96	-945 96	-2819 96
-4300 45	-6676 45	-2262 45	-4323 45	-707 45	-4379 45	-2273 45	23	480 47	-1307 45	-3494 44	-1824 45	-2140 45	-1436 45	-929 45
.4971 394	-7780 394	-4153 394	-4992 394	4215 394	-5043 394	3130 394	394	-2368 395	865 394	4255 393	2442 394	482 394	-110 394	1991 394
-1483 275	-6534 275	-2697 275	-4589 275	-1371 275	4642 275	423 275	754 275	1347 277	2772 275	-3488 276	-2139 275	-162 275	-1534 275	-1041 275
-2403 -720	-5967 -720	-3640 -720	-209 -720	-3509 -720	-2463 -720	-3663 -720	-2958 -720	-1858 -722	-3056 -720	4841 -722	-424 -720	-3384 -720	-2502 -720	-3661 -720 : 6/9
-810 -466	-5868 -466	4563 -466	1112 -466	-2213 -466	1905 466	4590 466	-1291 -466	-563 -467	-3872 -466	-5453 -465	267 -466	466 466	1775 -466	-2482 -30 -466 - e 3, Blatt 6/9
422 210	-7962 210	-2304 210	4700 210	-571 210	-1620 210	-597 210	383 210	1226 211	-1635 210	211	-2084 210	-1276 210	-963 210	1572 210 Tabelle
1807 -626	-6567 -626	4613 -626	1715 -626	-4347 -626	1839 -626	-4645 -626	-3940 -626	-2828 -627	-3935 -626 -626	-5604	-733 -626 *	504	1526 -626	-1497 -626 •
-3792 106	4105 106	•	• •			-								1424 1424 106 -1378
4921 399	-707- -7926 399	-201 -201 399	-387 -675 -399 -204	399	5 8 8 3	-707 -949 399	2429 399	-3087 -2270 397	-5709 136 399	3620	4725 -2717 399	. 495 399 399	-92 -2338 399	291 399 701
406 -381	-1115 1262 -381	-1115 -4866 -381	-1115 -3173 -381	2483 -381	-1115 -3223 -381	-1115 -1268 -381	-115 -4190 -381	-1115 -3081 -382	-6038 -4113 -381	-5496 -5496 -382	-6038 951 -381	-1-15 4556 -381	-1115 194 -381	-1115 -4893 -381 -1115
-5082 43	-8406 -8406 -8406	-894 2092 43	-894 -5104 -5104	467 43	-894 -5155 -43	43 43 43	-89- -553- -43	-596 -596 -596 -596	43 gg -53	-894 -3527 42	-2358 -2358 -2358	467	-894 -1454 -43	-894 917 43 -894
-5718 233	-12065 -8044 233	-5937 -645 233	-12041 -5739 233	-12003 -3047 233	-12065 -5787 233	-12065 94 233	-1236 42 233	-517 1622 232	2287 233	-9427 -3346 234	-9427 664 233	-95/3 1991 233	-11861 -4976 233	-12065 685 233 -1691
-3200 -500	-11023 -6590 -500	-11023 -39 -500	-10999 1498 -500	-11023 -4400 -5003	-11023 -3258 -500	-11023 -4574 -500	-11023 -3869 -500	-10226 -2766 -501	-523 -3593 -500	-3802 -3802 -501	-131 2000 -500	-853- -500-	-10819 -3305 -500	-11023 -4572 -500 -11023
-990 -149	-1 -7684 -149	-24 -1081 -149	1191 149	 -607 -149	-1 -1125 -149	-1 -1005 -149	-799 -1035 -149	-1736 727 -148	-3941 -2095 -149	-6 -3370 -150	-3549 -1261 -149	892 -149	-1 -874 -149	-1 -357 -149 -536
4 -	. 5.	. 99	. 67	, & , W	. 69	7 0		72	. 8.	. 4 4	7.5	9 2		7 8

85		83		8			82			89		8	2		5	<u>.</u>		S	36		83			94		;	92		8	}		97		;	8		Ş	n n			
-3580	Ĉ	-3359	-243	-139	-249		-2661	-250		-2771	-249	,	1485	-249	4040	710	667-	7037	400	C# 7*	ĸ	-249	2	4039	-249	İ	8	-249	236	-249	!	-1166	-249	;	401	-249	7077	404	-249		
4253	167	4032	- 234	-3635	-294		-2967	-295		-3453	-294		1903	487-	4746	2 2	5 87-	9	200	+C7-	4736	-294	5	261	-294		4076	-294	3605	-294		2043	-294		4684	-294	•	3	-294		
-571	665	-3452	20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 2	3068	999		-2556	-370		-2887	-369	;	1180	505	9	200	200	Č	607 607 707	600	-1911	-369	3	-847	-369		-273	-369	2082	-369	}	658	-369		872	-369	100	ر و و	-369		
-2565	=	-926	/۱۱	1572	117	:	-1559	120		-253	117		528	11/	272	, Ç	117	0	4828	=	424	117	•	-3857	117		-1632	117	3560	117	:	1115	117		808	117	i	ce :	117		
-2514	n n	- 8 30	328	1907	359	3	-1448	358		-1682	329		-1179	328		<u>¥</u> ;	328	6	2062-	n n n	1530	350	2	4518	359		-2040	328	4206	359	3	-1669	329		-592	328		-2982	328		
-2358	8	450	98	1710	2 6	3	-760	95	:	112	96		-3398	98	,	1884	98		-6337	5	337	3 8	9	4969	8		2679	98	4766	8 F	3	,	98		342	9	į	ဆို	96		
	5	-1588	2	1633		ř	-964	4	:	490	45		1816	45	3	238	42	9	-298	Ç	F23	4 4	3	4757	45		-1131	45	7502	4302 An	}	-601	5		-2241	5		-938 -038	42		
1160	394	-3471	394	2054	304	3	-2398	393	3	-2864	394		4131	394		4 180	394		-6634	394	4475	3 5	t n	5458	394		4533	394	1000	7070-	5	4207	394		-1471	394	;	191	394		
877	275	1660	275	Ç	27.5	23	-1209	27.4	i	196	275		-3416	275	i	-779	275	;	-6303	275	7	275	6/7	VOOV	275		-1006	275		4630 275	77	-893	275		798	275		922	275		
-3153	-720	-2934	-720	000	6007-	27.	-2313	227	17.	-2359	-720		1415	-720		-3613	-720		-3511	-720	ţ	, ç	07/-	2000	-720		442	-720	ļ	720	071-	-3532	-720		-3585	-720		-3651	-720	6/2	2
-1437	466	-1696	466	6	-3452 466	8	3036	465	3	3281	466		530	-466		767	466		-2106	466	Ç	707-	8	1000	-1032 -466	}	-893	-466	Š	780	B	-1771	466		-2336	466		4575	466	Tabelle 3. Blatt 7/9	; ;
44	210	-556	210	• 6	2031-	2 *	1026	200	§ *	1020	210	•	-731	210	* .	636	210	•	-6490	210	•	4007	210		25	*	356	210	•	8 9 9 8 9	217	738	210	*	-2283	210	*	-621	210	Tabelle	1000
-1448	-626	-3887	-626	•	-3512	9 7 9-	2062	2005-	170-	2222	-626	*	-2156	-626	•	4547	-626	*	40	-626	• !	-45 C C C C	-626	. 6	5 5 6 6	*	-179	-626	•	2161	070	-140	-626	•	-650	-626	•	-1718	-626	Þ	
2881	8 5	-2042	108	ဌ	654	3 2	رن د د د د د د د د د د د د د د د د د د د	1200	2 2	4 4 2 3	106	-711	385	106	-5486	-2749	106	-1378	-5389	106	-1378	<u>ş</u>	106	-1378	-3923 106	-1378	-3193	106	-1378	-4093	9 5	-13/8	108	-1378	1139	106	-2623	1013	106	-1378	
1116	399	2833	388	-4876	6 6 6	330	5155 5155	282	402	1001-	399	-1361	4071	338	-33	4088	399	-701	-6725	333	-70	1479	333	-701	300	102	-4457	399	-701	-5204	35.5	-, -, -, -, -,	300	-28	2082	399	-256	473	333	-701	
-4364	-381	- 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-381	-1115	-3765		-1115	-3284	5	200	38.	-1115	-2609	-381	-1115	944	-381	-1115	4006	-381	-1115	4853	-38	-1115	2582	1115	-142	-381	-1115	1663		-1115	1 8 8	-1115	4797	381	-1115	-1166	-381	-1115	
1067	43	-234	£	-894	-530	43	488-	9601-	4,	-1549	7 2	-894	-3565	43	-894	147	5	-894	-6801	43	-894	8	4	-894	-5598	2 42 2 43	1600	43	-894	-5354	43	-894 1	<u> </u>	-894	332	43	-894	-302	43	894	
903	233	d122-	233	-1801	-1830	233	-257	-1160	232	-2301	8 K	-10494	868	233	-11301	-1312	233	-12065	-7273	233	-12065	-2961	233	-12065	-6172	233 12065	-3807	233	-12065	-5979	233	-12065	233	4840	391	233	-12014	1178	233	-6015	
. 5	-500	 545 25-16	6	-10207	-3448	-200	-9720	-2189	-50	-761	7075-	9452	582	200	-10259	-272	500	-11023	-522	-500	-11023	-4545	-500	-11023	-3714	1000	44	-20	-11023	192	9	-11023	200	-11023	4492	-500	-10972	-653	2009	-11023	
-660	-149	-351	4.	490	961	-149	-2627	-1425	-1 03	-2273	> ?	•	527	-149	?-	866	-149	7	-4871	-149	7	7	-149	•	-1905	-149	· 6	-149	7	-381	-149	T (1360		1767	-149	7	-166	-149	-53	
6 2)- I	۰.۰), 1)	•	8 1		•	8 2	•	•	က	9 1	, α	,	•	ις: α	, ,)	•	9	•	•	8 7	•		8		, d	, ,	•	0		•	0 -	• 1	, 0	.	•	6	,		

Tabelle 3, Blatt 7/9

6	5	102	103	40	122	23	124	125	126	127	128	129	130	131
596 -249	326 -249	-3490	1665 -249	-2597 -255	-2336 -249	-5952 -249	-2314	1672 -249	1694 -249	422 -249	-760 -249	-960 -249	579 -249	1188 -249
858 -294	3290 -294	-4239	-3297 -294	-3460 -269	-3010 -294	-6723 -294	-2901 -294	1867 -294	-3033 -294	-3396 -294	1747	2895 -294	-4527 -294	2426 -294
4174 -369	-3014 -369	-3687 -369	-2730 -369	-2876 -364	-369	-5843 -369	.369·	-2712 -369	-164 -369	354 -369	651 -369	-369 -369	885 -369	979
-1359 117	-1862 117	117	1287	-1592 117	-1317	-238 117	-1485 117	-1671 117	-1768 117	-1882 117	-1341	369	-317	-1548 117
843 359	-519 359	1632 359	-1531 359	-1329 364	-1265 359	491 359	87 359	-213 359	-1850 359	421 359	-904 359	68 359	-958 359	-2068 359
-1193 96	-1644 96	-2648 96	-1372 96	-1653 90	86 88	-955 96	-1401 96	2944 96	-17 96	-1759 96	-1285 96	-224 96	1137 96	-1295 96
-798 45	45	-1914 45	700 45	-619 42	1522 45	467	1275 45	625 45	382 45	-1211 45	1076 45	971 45	-2398 45	4178 45
-510 394	1197 394	3097 394	-2717 394	-2265 388	-2450 394	-5159 394	-2677 394	-2803 394	-2999 394	-3039 394	1944 394	4047 394	942 394	4921 394
1595 275	165 275	170 275	-1260 275	1657 274	420 275	-3559 275	1005 275	-1366 275	348 275	2387 275	317 275	894 275	1040 275	4458 275
-3641 -720	-2483 -720	-3279 -720	-2201 -720	-2473 -726	-1912 -720	-5824 -720	1100 -720	-2201 -720	-1872 -720	-2267 -720	-3460 -720	-3514 -720	-430 -720	-2395 -720 8/9
-4568 -466	-1191 -466	-4097 -466	-3125 -466	-3273 -470	-799 -466	-6569 -466	-66 -466	-902 -466	-2661 -466	-3119 -466	-1665 -466	-114 -466	-102 -466	4523 1289 -2: 210 -466 -: Tabelle 3, Blatt 8/9
-482 210	1102 210	-2097 210	424 210	-969 210	1001 210	4334 210	-928 210	293 210	* 187 210	-1269 210	-1170 210	758 210	1499 210	4523 210 Tabell
-4623 -626	* -3462 -626	4084 -626	-3174 -626	-3362 -629	-2870 -626	-6619 -626	-2470 -626	* -3113 -626	-2494 -626	489 -626	-809 -626	874 -626	-949 -626	-72 -626 *
1661 106	-699 1789 106	% 8 6	\$ 15 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	-98 100	-303 -1016 106	-1266 -4264 106	-67 3746 106	-89 -1350 106	-112 -1599 106	-100 -1627 106	-2999 1125 106	-249 -2614 106	-2047 -372 106	-297 -297 -2168
753 399	-1381 -2897 399	-5359 -3320 399	-5443 -2623 399	-5540 -1860 401	-2398 -2357 399	-776 3521 399	4472 -2587 399	-2715 399	-3745 -2914 399	-3895 -2937 399	-193 -1006 399	-2658 -3955 399	462 339 339	-1491 4869 399 -363
585 -381	-1115 -3713 -381	-1115 1263 -381	-1115 424 -381	-1115 -3526 -376	-93 -3128 -381	-1115 -6758 -381	-1115 -2810 -381	-1115 -3394 -381	-1115 3110 -381	-1115 -3366 -381	-1115 -1270 -381	-1115 -4731 -381	-1115 -1688 -381	-1115 588 -381 -1115
-686 43	-894 -208 43	25 2 43 43 43	-894 1845 43	-89 184 88	4002 1857 43	-328 -328 43	-894 -1022 43	-894 -1072 43	-894 181 43	86 86 83 84	-894 1666 43	43 43 43	25 th 45 th	485 485 434 434
1435 233	-718 -409 233	-3326 -1734 233	-2885 230 233	-517 2505 238	-2137 -1238 233	-9958 -645 233	-710 -233	-10146 318 233	-10302 -1979 233	-10481 2145 233	-10609 -2912 233	-5643 150 233	-11927 -1522 233	-12038 1900 233 -6189
														-10996 -3194 -500 -10996
-17	-1352 990 -149	-154 -2694 -149	-212 590 -149	-1738 763 -143	-1546 924 -149	424 149	-1366 -1545 -149	-1738 -149	-1830 -149	486 -486 -499	-3 -1642 -149	-30 -1173 -149	-1 -3107 -149	-1 -3341 -149 -21
9.	. G	. y .	- 6	, es ,	ເ	. 0 .	. 6	10 2	10 3	. 4 01	- 10 5 -	10 6 -	10 7	. 10 8

132	133	134	135	136	137	138	139	140	1	142	143	44
-3839 -249	-540 -249	-7065 -249	-1076 -249	4259 -249	-6720 -249	-3916 -249	1981 -249	123	-101 -249	-3807 -249	-3812 -249	-3803
-4396 -294	-4346 -294	-7702 -294	-4874 -294	3313 -294	-6964 -294	-4514 -294	-4725 -294	-3630 -294	4721 -294	-4488 -294	793 -294	4481
1173 -369	530 -369	-6356	-4174 -369	-4009 -369	-5531 -369	-1581 -369	-819 -369	1867	1511 -369	1049 -369	-3933 -369	451
302 117	815 117	-1693 117	-1326	4716	-764 117	1002	-3012	-536	117	-1010 117	-1349	-851
-865 359	-280 359	436 359	-3761 359	-5268 359	211 359	-3071 359	165 359	359	926 359	844 359	-74 359	781
1231 96	-546 96	-6607 96	62 96	-677 96	-6130 96	1741 96	-156 96	4450 96	-2798 96	-193 96	2020 96	-621
-851 45	-2623 45	-5224 45	-978 45	-5379 45	733 45	-1065 45	-1025 45	-323 45	474 45	482 45	-2011 45	£ *
385 394	117 394	732 394	3834 394	-6164 394	-5611 394	956 394	4141 384	4943 394	308 394	-399 394	1394 394	2430
-2962 275	-1173 275	-4536 275	-3528 275	634 275	-1234 275	-165 275	225 275	4539 275	417	-2448 275	2127 275	* 55
-3236	-3176 -720	-6744 -720	-3786 -720	53 -720	-5828 -720	-3377 -720	-3630 -720	-37 -720	-3626 -720	-718 -720	-3401 -720	-3384
837 -466	1062 -466	-7537 -466	-4555 -466	-2040 -466	-6710 -466	-2413 -466	-2223	303 466	4549 -466	-318 -466	-1184 -466	-2372
1662 210	-984 210	-5967 210	-2824 210	-5937 210	-6057 210	2314 210	453 210	4650 210	-2291 210	321	-368 210	-2058
-119 -626	1060 -626	-7459 -626	-1424 -626	4061 -626	200	-1803 -626	4608 4608 4626	1242	-1120 -626	4370	-4383 -626 -	4352
-2903	-1984 -2964 106	-1378 -5445 106	-1378 -3382 106	-1378 -3987 106	-5868 -106	13/8 141- 106	-1378 -2707 -106	-3764 -3764 106 -1378	368 106 1378	-259 106	-1378 -2471 106	-13/0 -2474 *
4216 399	-420 -4269 399	. 166 199 399	25. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1.	-751- 399 295	399	4149 399	.70 .399	28 8 5 28 8 5 28 8 5	355 399 7	399	389 389	1423
-4244 -381	-1115 -4152 -381	-1115 -7555 -381	-1115 -4813 -381	-1115 582 -381	-1-1-3 -6739 -381	-1115 1616 -381	-1115 -1140 -381	- 101 - 281 - 281	.384 285 245 255 255 255 255 255 255 255 255 25	4621	-1115 -4632 -381	-544
-1038 43	678 43 63	484 4419 43	-894 -1187 43	-894 -6355 -43	-6125 43	-894 -2567 43	594 592 43 594	-5055 -5055 43	43 43	85. 85.	525 43 525 535 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54	-626 -626 • •
-3254 233	-12046 -1481 233	-12065 3854 233	-12065 -3848 233	-12065 -6779 233	-12095 -6209 233	-12036 -3118 233	-12036 70 233	-12036 -5691 233	432 432 233 434 437	233	-1173 1556 233	-11773 113
-4097 -503	-1703 -508 -508	-11023 -5414 -500	-11023 -4583 -500	-11023 -428 -500	-11023 -4607 -500	-10994 -4254 -500	-10994 -550 -500	-10994 976 -500	4535 -500 -500	4 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	-10731 -4311 -500	-10731 -4293
-117	1344 149	-1 -4562 -149	-1 375 -149	-149 -149	-1 3042 -149	-1 -1554 -149	-1 1683 -149	-1 435 -149	- 149 - 49	. 89 -149	-1 -2839 -149	-1 -2838 *
10 9	110	. 1 .	. 2 .	. 5.	. 4 .	. 1 .	- 1 6 .	11.7	. 4	119	12 0	. 12

Tabelle 3, Blatt 9/9

\$

-282 -249

-3593 -249

-2821 -249

-3593 -249

328 -249

2755 -249

										•				•								•			•				
										-1998	≥			766	-294		-3182	-294	-3167	-294		-3163	-294		4276	457	4184	-294	
										384	>			-3713	-369		1681	202	317	-369		1419	-369	į	-1759	P P	-3408	-369	
				•.	- 0			-		2 04	۲			423	117	;	-306	Έ.	516	117		1224	117	;	8 1 1 1	1	-2901	117	
										531	S			-566	328		-1684	e S	-3516	329		-1376	329		-2500	S S S	1729	329	
										4 5	œ			-723	9		-3998	8	-3988	96		-3982	96		1650	S	2651	96	
										313	σ			3256	45	;	-3820	0	-3811	45		-3804	ડ		1554	5	-2392	45	
										5	۵			-3686	394		4488	39 4	4481	394		2650	394	į	95. 45.	ž,		394	
										-142	z			-2229	275	į	-883 1	c/2	-4078	275		4071	275	;	-743	C/7	-2815	275	
										-1085	Σ			-3181	-720	!	-1917	-/20	1689	-720		833	-720	9	-3182 -700	3,		-720	ç
										206	_			4108	466	•	522	8	444	-466		-155	466		4109	ę B	385	466	Dio# 1/32
28)										249	×	3->e		-1052	210	•	4195	210	4188	210	*	4 19	510 1	' ;	8 8	0L7	-2370	210	Tohollo 4
(PF 0012								4		197	_	₽- -q		4163	-626	ဗို	3045	979	101	-626	*	ဇ္	-626	•	4165	970	-3669	-626	• •
Оотапе								-8455		-1158	I	P <- P		244	106	-1378	-3316	-1 <u>-</u> 8	278	106	-1378	-3297	<u>\$</u>	-13/8	2291	-130 278 278	-2739	106	-1378
Pfam Alpha-Amylase Domåne (PF 00128)								4		453	ပ	E<-p		-202	388	-70	-1822	388 427	4432	388	-701	-1450	33	5 !	-1377	3 E	82.	333	-701
Alpha-A								-8455		-294	ш.	<u>7</u>		696	381	-1115	-2673	-381 -1115	2368	-381	-1115	448	8	CI II	4414	2 2 4 4 4 4	6 9 9	-381	-1115
								-1000		338	ш	<u>.</u>		925	43	-894	4597	-8 8 4	4593	£3	-894	4585	£ 5	4 6	318	5 g	-943	43	-894
HMM für	nain			EED.ann				-1000		82	۵	p <- E						-15 gg	-5229	233	-11527	-5221	233	/7CL1-	2249	233 -11527	3114	233	-11527
ng des l	alytic dor			Is.ann S d o HMV				4	-8455	-1558 3020	ပ	÷.	•	-4092	-200	-10485	-2711	-500 -10458				-2705			4093	-500 -10485			-10485
ır Erstellu	lase lase, catr			-F HMM_ ate see				-8455		35 0.13		EE	ဗ္ဗ	-1605			-2887	- - - -		-149		-275	_		899	5 - 5 -			÷
Tabelle 4 Angaben zur Erstellung des HMM für die	2.0 [2.3.1] alpha-amylase PF00128 Alpha amylase, catalytic domain 464	Amino no	្ ស្	hmmbuild -F HMM_Is.ann SEED.ann hmmcailbrateseed 0 HMM Is.ann	**	2797	-82.0 -82.0 -81.7 -81.7	1.30-1.3		56 -218.894150				•	•	•	7		က	•		4	•		ın	• •	9		•
le 4 An	K		S S	ž Ē		-		•																					
Tabeli	HMMER NAME ACC DESC LENG	ALPH R R	S §	00 00 00	NSEQ	CKSUM	8 t 5	₹ \$	NULT		HWE																		•

Tabelle 4, Blatt 1/32

~	ω	တ	5	£	2	5	4	15	9	11	19	2	23	23
-3409	1332 -249	-3210 -249	686 -249	-169 -249	-3242 -249	-3279 -249	-3266 -249	-249	822 -249	-2237 -250	-1714 -247	2020 -249	2948 -249	-5570 -249
-4250 -294	-4275 -294	4434 -294	-3874 -294	-3868 -294	1820 -294	-3961 -294	-3940 -294	-294 -294	-3081 -294	-2919 -295	-2362 -295	-1558 -294	3621 -294	-5743 -294
-3568 -369	-1924 -369	-3332	-3313	-922 -369	-893 -369	-3398 -369	-963 -369	-864 -369	-2523 -369	-2356 -370	187 -367	-1532 -369	-1631 -369	-5961 -369
-4659 117	-68 117	-500 117	-208 117	-195 117	1384	587 117	-130 117	-3056	329	635 116	1192	-1094 117	-1276 117	4785
-4986 359	119 359	-673 359	-222 359	359 359	1520 359	1690 359	-2195 359	458 359	-1313 359	1298 358	1266 359	1211 359	-1376 359	4656 359
-6161 96	382 96	1149 96	170 96	-2232 96	68 89 89	98 98	-2039 96	-2969 96	88	656 95	-576 97	-1099 96	1164 96	41 98
-5797 45	544 45	-1408 45	226 45	-1695 45	-1519 45	-1479 45	463 45	102 45	970 45	050 4	-31 45	-661 45	-787 45	-4302 45
-6017 394	-3686 394	-3300 394	-3285 394	-3528 394	2148 394	-671 394	-3381 394	-3945 394	2468 394	318 393	-1889 393	2208 394	-2490 394	-5444 394
-5813 275	1248 275	1805 275	504 275	654 275	-232 275	1965 275	2669 275	1868 275	1351 275	-875 276	1334 275	-983 275	-1188 275	4630 275
-3124 -720	425 -720	-2800 -720	-2780 -720	-489 -720	-2794 -720	-2866 -720	-2841 -720	-3801 -720	-1990 -720	-1825 -721	-1251 -721	-1184 -720	-1264 -720	-5801 -720 /32
-1435 -466	4107	-3725 -466	-3707 -466	-919 -466	-3694 -466	-916 -466	-1468 -466	4670 466	-2915 -466	-1002	-2136 -264	-1890 -466	-1991 -466	-3624 -6413 -5 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 2/32
-6493 210	210 210	229	799 210	-1746 210	862 210	123	276 210	-2381 210	551 210	479 212	-79 211	210	-820 210	-3624 210 Tabelle 4
-946 -626	4163 -626	-3781 -626	-3763 -626	-3520 -626	-873 -626	-948 -626	-181 -626	4742 -626	-2970 -626	-2804 -627	-2122 -623	-1776 -626	-1843 -626	-6660 -626 •
4848 106	1378 301 106 106	-13/6 -1867 -106	1850 106 106 106	2112 106 106	1986	5 6 6 6 6	4 9 5	-2603 106	8 49 49 8 49 8	8 5 4	2069 105	2497 106 163	-975 -975 -975	931 106 -73
-1492 399	-701 -3593 399	3204	2378 399	399	3303	3280	399	3666	399	400	398	399	399	3702 399 4348
4401 -381	-1115 -4412 -381	. 38. 186.	-4012 -381	-3837 -381 -381	-1-15 -3978 -381	-381 -381	4055 -381	-381 -381	-3222 -3222 -381	-3055 -381 -555	-2409 -381	-381 -381	-381 -381	-381 -1115
-6833 43	-894 1414 43	\$ E & C	85 th 28	5 53	\$ 65 4 65 5 4 5	464	248 43	-356 -43 -43 -43 -43	454 454 843	888	22.25	\$ 69 \$ 43 \$ 43	-98- 543	4756 43 484
-7039 233	-11527 -2467 233	13.18 13.18 233	-11055 95 233 2405	3319 233 233	489 233 233 233 233	1225 233 233	23 23 23 23 23 24 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25	3887	-1020 -1279 -233 -233	145 237 237	472 472 232 232	-2/38 -1203 -233 -233	233	-333 233 -1085
-4497	-10485 -4092 -500	-3710 -3710 -500	-10013 -3691 -500 -500	-3619 -3619 -500 -500	-3694 -500 -500	-3776- -500- -500-	- 689 - 500 - 500 - 500	-4662 -500 -500	, 500 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -500	-2735 -501	-2136	- 1851 - 1854 - 1854	-2094	-5007 -5007 -500 -9690
-1460 -149	-1 1015 -149	-474 -798 -149	-754 -149 -149	-2420 -149	-87 -1036 -149	-1310 -149	-2309 -149	-165 -149	-1432 -149 -149	347	-806 -149	2 1	456 -49 49	-4548 -149 -923
٠.	, 00 ,	, O ,	, 유 .	, ,	. 2 4 .	. 45 .	. 9 .	. 4 .	. # .	, 6,	. 8 .	

24	25	27	88 8	8 8	32	33	38	4	4 .4	4	ß	2 2
-2247 -249	-1803 -248	-2101 -249	-2175	1661 -249 -1989 -251	-2149 -249	-1308 -247	-1985 -250	-3935 -249	-2033 -249 -2035	-244 -1901 -236	-1390 -249	-1660 -249
-2927 -294	-2316 -296	-2655 -294	2230	-2434 -294 -2586 -296	-2820 -294	4088	-2724 -295	-294 -294	-2686 -294 -2775	-295 -2579 -297	-1794 -294	3129 -294
-2362 -369	-1479 -371	-226 -369	-2295	-1647 -369 -1876 -369	-2235 -369	-1562 -370	-2160 -367	-2799 -369	-1990 -369	-3/0 -1956 -372	493 -369	-369
-1216 117	1299	-1252 117	1091	64 117 -1135 121	-1140	-1145 116	-972 117	1591 117	1554 117 -1019	-836 -121	-613 117	-674 117
1244 359	-1294 360	1473 359	359	-1229 359 294 360	359	-1254 358	-835 359	-1512 359	-891 359 -878	359 1096 357	1463 359	-628 359
691 96	-1242 95	-1296 96	-959 96	-1146 96 1181 95	-939 96	2066 95	1044 95	-3258 96	96 96 96	95 1666 94	-1420 96	407 96
-452 45	-742 44	-775 45	1628	-630 -504 -504 -504	1105 45	-520 44	-116 45	-3088 45	-339 45 2872	8 <u>t</u> 8	-1077 45	86 45
-2345 394	455 395	508 394	394	-2381 394 -2320 394	-2269 394	-2243 395	1442 393	3791 394	-2035 394 -1948	393 -1867 396	1812 394	-1794 394
332 275	774 276	-1168 275	853	794 275 1155 276	2015 275	-1120 276	-283 278	-2515 275	1798 275 1280	275 -373 273	-1214 275	1410 275
-1832 -720	-1134 -722	-1499 -720	-1765	1632 -720 -1446 -722	-1720 -720	-1201 -722	-1674 -721	-3211 -720	-1592 -720 -1721	-721 -1509 -723	-541 -720	-1225 -720 /32
-2756 -466	-649 -465	-2307 -466	-2689	-2062 -466 -751 -467	-360 -466	-1896 -465	-2550 -466	-3965 -466	-2454 -466 -2589	-2392 -466	-1183 -466	-2120 - -466 4, Blatt 3/32
674 210	-817 211	-842 210	420	210 210 215 215 2112	433 210	-73 209	-256 -256 211	-3291 210	210 210 347	213 -193 211	-1215 210	1304 210 Tabelle 4,
-2808 -626	-79 -628 -628	-177 -626	-2742 -626	-1897 -626 301 -624	315 -626	-1800 -627	-2615 -627	-3699 -626	-2424 -626 *	-627 -2418 -629	2029 -626	-2139 -626 *
1540	45 45 45 45 45	± 4 ± 8	4 ^統 6 4	-986 106 43 1886 104							•	
55 399	-5017 -2349 397	-5076 145 399	-5076 1087 399 -5076	632 399 -5076 -2231	-5076 -2171 399	-5076 1555 397	-3740 -1663 398	-4191 -2079 399 -5295	.4278 -1686 -1686	398 -5334 1600 403	4299 -1561 399	-3735 -1688 -1688 -1998
1125 -381	-1115 714 -374	-6287 -2512 -381	-1115 -2992 -381 -1115	121 -381 -1115 -2518	-6287 -2924 -381	-1115 -1714 -382	433 -2841 -381	-5016 -3951 -381 -1115	-2705 -2705 -381 -1115 -2866	-381 -5058 -2670 -383	-204 -1367 -381	-1115 -2414 -381 -1115
-578 43	-894 -929 -42	43 th	894 871 894 894	588 43 652 44	-19 352 43	-1066 -44	-1947 1847 44	-3276 -43 -894	-634 897 43 -894 15	44 t' 4	-2921 -1375 -43	-894 1228 -834 -894
	•	•	•	233 -9662 -576	•	•						
				2805 -500 -8620 2653								
740 -149	-158 1093 -148	-3784 1491 -149	-5 -1203 -149 -5	-1213 -149 -5 -5 339	-3784 -39 -149	-1468 -1168 -150	-2331 -1006 -149	-2612 -1276 -149	-149 -149 -567 -567	-146 -2649 -842 -151	-2649 -468 -149	-15 844 -149 -10
23.	. 8.	. 24 .	25	52 29	. 89 .	. 53	. ස ,	٠ ۾ .	. % 8	% .	. 33 .	. 8

55	99	22	88	99 9	3	19	62	83	2	65	99	29	89	69
-1818 -249	-2445 -249	-2561 -249	3735 -249	950 -249	-249	-5752 -249	-3575 -249	1549 -249	1599 -249	-4633 -249	-2848 -249	-2886 -249	-3593 -249	-3602 -249
2063 -294	-3126 -294	-3236 -294	2202 -294	1995 -294	-294	2842 -294	-4266 -294	4461 -294	1561 -294	-5412 -294	-3190 -294	-3248 -294	-4276 -294	-294 -294
-1302 -369	-2566 -369	-2660 -369	-369 -369	-1457	369	-6847 -369	-3703 -369	-5998 -369	-915 -369	-369 -369	1462 -369	-2225	-3714 -369	-3724 -369
-1448 117	-163	912	-5247 117	56 117	117	-5649 117	-85 117	-6866	-2558 117	-1041	-2841 117	1925 117	-916 117	-2567 117
451 359	54 359	196 359	-5144 359	359	359	-5444 359	-92 359	-6607 359	-349 359	-788 359	-1907 359	-1332 359	659 359	-607 359
-1840 96	1810 96	-1331 96	-5283 96	-3228 96	5 9 9	-6847 96	-2336 96	-6752 96	653 96	-3537 96	-334 96	-1052 96	-122 98	394 96
-1404 45	543 45	-785 45	-4740 45	415	-3260 45	-6630 45	-108 45	-6118 45	2327 45	-2731 45	-3831 45	-3405 45	1818 45	291 45
-313 394	-2539 394	-2673 394	-5814 394	-3744	394 394	-6308 394	-3641 394	-7210 394	-1010 394	4479 394	4500 394	4369 394	-3686 394	-3694 394
-22 275	793 275	38 275	-4657 275	-3250	-3526 275	-503 275	745 275	-6000	1061 275	905 275	-852 275	-1442 275	1507 275	545 275
-1028 -720	-2033 -720	975 -720	-3879 -720	-1230	-1368 -720	-7095 -720	-3178 -720	-817 -720	-3181 -720	4372 -720	-384 -720	730	-694 -720	-3191 -720
1445 466	635 466	-87	-3916 -466	-289 -466	-2012 -466	-7616 -466	-1684 -466	2298 -466	4107	-5236 -466	705 466	539 -466	494 466	4117 -466 -466 -466
-1529 210	1771 210	1910 210	-18 210	-3416 210	-3635 210 *	-6977 210	488 210 4	-7378 210	1546 210	2 434	4207	-3664 210	197 210	3069 210
902 -626	-3015 -626	-3095 -626	-626	-1531 -626	1190 -626	-7798 -626	4154-626	-5780 -626	-1675 -626	-5311 -626	3058	2217 -626	-4164 -626	4174
-1528 106			-											1004 106 106 -1378
-153 399	-3914 -2446 399	-3200 -2580 -2580	4772 -5925 399	3703 399 -1292	399	3 38 38 45		399 2057-	399	3120 339 339	399 399 399	-707- -1277 399	3593	-701 399 -701
-1869 -381	-1115 -3266 -381	-1115 197 -381	-1115 3176 -381	2865 2865 -381 -1115	-357 -381	-1115 -6106 -381	-1-15 -4399 -381	-1115 1401 -381	-381	-1115 -757 -381	- 1964 - 384 - 384	-1115 -2771 -381	-381	-381 -381 -1115
-1680 43	-894 -772 43	-89- 301 43	-894 -6279 43	-3804 -3804 -894 -894	4038	-894 -6490 43	-1838 -43	-894 -7818 43	55. 15.	2 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3	4610	-894 -3941 -43	40 5	853 433 894 894
1080 233	9995 660 233	-10089 1094 233	-10272 -6105 233	-10272 -4383 233 -10272	4673 233	-10903 -6123 233	-11290 3357 233	-11330 -7498 233	196 233	-11527 826 233	-11527 -5245 233	-11527 -1772 -233	-1727 1714 233	-1152/ -1336 233 -11527
-1848 -500	-8953 -2944 -500	-9047 -3045 -500	-9230 -500 -500	-9230 -500 -500 -9230	1113	-9861 -5553 -500	-10248 -4083 -500	-10288 -5986 -500	-4092 -500 -500	-10485 -5231 -500	-10485 -2725 -500	-10485 -2803 -500 -500	-10483 -5004 -5006	-10485 -4102 -500 -10485
590 -149	-1473 -149	-1602 -149	-360 -149	-2207 -149 -149	-2335 -149	-2 -5229 -149	-2 -2600 -149	-2 -7012 -149	-940 -149	-3634 -149	-1 -1108 -149	-1 1260 -149	-1 -597 -149	-1 -886 -149 -1
37	, & .	. 8 .	' 6 '	. 4	45 -	, इ	' 4 '	. 45 .	. 46 .	. 44	. 8 .	. 4 ,	. 9 .	. 12

Tabelle 4, Blatt 4/32

2	7	74	75	92	#	8	87	88	88	6	9	95	83	8
-2850 -249	-3593 -252	4195 -249	-5384	-3595 -249	-3595 -250	-2867 -249	-6696 -249	2078 -249	-3828 -249	69 -249	-6228 -249	2050 -249	-5137 -249	4145 -249
866 -294	-4275 -297	-3633 -294	897 -294	-4277 -294	-4278 -295	863 -294	-7108 -294	-3252 -294	4510 -294	-3379	-6741 -294	5623 -294	-5182 -294	-294 -294
-2167 -369	-714 -372	-1236 -369	-1773 -369	-1108 -369	-3717 -370	-2194 -369	-6340 -369	2155 -369	-3919 -369	348 -369	2423 -369	-6021 -369	1290 -369	-3381 -369
117	9 1 1 9	-171- 711	117	52 117	386 118	-1516 117	4961	472	2930	-151 117	1170	-6602	-217 117	117
-1877 359	-593 360	-1575 359	-7629 359	-1596 359	378 360	-3401 359	4650 359	-3598 359	-250 359	-520 359	-6742 359	-6378 359	-6294 359	2681 359
-3835 96	-851 95	-2913 96	-7081 96	-2342 96	-1051 95	-3763 96	-5877 96	-4070 96	-2610 96	-3437 96	-7338 96	-5787 96	-6450 96	-4625 96
45 45	-97 46	-872 45	-6330 45	929 45	43 44	-3501 45	-140 45	-3893 45	-2038 45	-533 45	-7112 45	1984 45	-6001 45	-4323 45
-4423 394	393	4014 394	-7194 394	-3689 394	1224 393	-4397 394	-5670 394	4557 394	-3879 394	-4268 394	-7060 394	-7002 394	-6641 394	1518 394
-3894 275	840 275	-1139 275	-7944	74 275	1061 279	-1246 275	-1046 275	4156 275	1252 275	-3423 275	-7004 275	-5711 275	-6732 275	233
273 -720	-3181 -713	-2430 -720	-2238	-3183 -720	-3184 -721	2191 -720	-6605 -720	-132 -720	-466 -720	176 -720	-3597 -720	-5291 -720	1608 -720	783 -720
2295 -466	4108 468	-1492 -466	2680 -466	4109 466	4111	2098	-7311 -466	-2606 -466	4333	-2818 -466	466 466	-1756 -466	2037	4592 -1531 210 -466 abelle 4, Blatt 5/32
-1076 210	.912 210	-2540 210	-7642 210	2745 210	145 211	225 210	-5436 210	4267 210	-694 210	-3255 210	-7153 210	-6009 210	-6715 210	-4592 210 Tabelle 4
695 -626	-1864 -629	994 -626	2396 -626	4164 -626	-4167 -627	891 -626	-7338 -626	2081 -626	4376 -626	-2494 -626	3081 -626	-5892 -626	2298 -626	-3617 -626
2 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-1378 -2252 103	-1378 -591 106	-1378 -6742 106	-1378 830 106	-13/6 -2254 110	25.0 260 106	-1378 -5181 106	-1378 -3389 106	-1378 -2487 106	-13/8 1204 106	-1378 -7445 106	-13/8 -3585 -106	-1378 -6044 106	-1378 -4173 -1378 -1378
4369 399	-701 -1720 401	-701 -1425 399	-701 -8240 399	-70 38 38 38 38	5 4 8 8	4341 399	3748 399	-701 -4510 399	-701 555 399	-701 1140 399	-704 -7349 399	-706- 389	399 399	-701 -4330 399 -701
-2710 -381	-1115 -4413 -383	-2304 -1049 -381	-1115 174 -381	-1115 -4414 -381	-1115 -4416 -381	-2738 -2738 -381	-1115 -7234 -381	-1115 1996 -381	-1115 -4626 -381	-1115 -2940 -381	-1115 -4920 -381	-1115 -2190 -381	4 4 4 5 5 5 7 8 8	-1115 -4047 -381 -1115
4242 43	-894 545 43	-327 -1552 43	-894 -7836 43	-894 -714 43	45 45 45 45	-2807 -4088 -43	-894 -4255 43	-894 -1394 43	-894 -2113 43	-3461 -3461 43	-894 -7167 -43	25. 45. 45. 45. 45. 45.	695 43 695 695	-894 -4848 -43 -894
428 233	2782 2782 240	-11527 702 233	-11527 -8423 233	-11527 -2468 233	-11527 1980 234	-11527 -1042 233	-11527 -3869 233	-11527 -5299 233	-11527 1152 233	-11527 -4036 233	-11527 -7476 233	-11527 -6657 233	-11527 -7496 233	-11527 -5290 233 -11527
2795	10485 4092 502	-1590 -3261 -500	-10485 -5426 -500	-10485 -4094 -500	-10485 -4095 -501	-5599 -2775 -500	-10485 -5401 -500	-10485 -2769 -500	-10485 -4233 -500	-10485 -2941 -500	-10485 -4256 -500	-10485 -5975 -500	-10485 -4582 -500	-10485 1372 -500 -10485
78	124	-583 -2739 -149	-49 -149	-1 917 -149	-680 -150	-31 942 -149	-1 -4606 -149	-1 -1029 -149	-1 -239 -149	-1 2623 -149	 7774 49	-1 -6746 -149	-1 -5029 -149	-1 -1269 -149 -1
52	. 8.	, 25 ,	. 22	. 98 .	57	, 88 ,	. 65	. 69 .	. 20 .	. 8.	. 8 .	. 64 .	. 65 .	. 99 . ,

88	96	91	88	8	6	5	<u>\$</u>	105	106	107	108	109	110	114
-6836 -249	-5492 -249	2169 -249	-3593 -249	-2498 -249	-1765 -249	1085 -251	-1367 -249	-2668 -249	-2835 -249	1105	-3574 -249	648 -249	-1910 -251	1044
-6953 -294	-5951 -294	1665 -294	-4276 -294	-3163	-2099	-2988 -296	3508 -294	-3260 -294	-3462 -294	-4106 -294	-4245 -294	-4014 -294	-2554 -296	-2562 -294
-1240 -369	1900 -369	526 -369	-1818 -369	-183 -369	1248	-2416 -371	862 -369	402 -369	1437 -369	-28 -369	-1532 -369	-3453 -369	578 -371	-1846 -369
4047	4483 117	-28 117	-537 117	323	-1732 117	120	1170	1132	-801	-322 117	170 117	-568	-940 116	-1123
-3825 359	-5945 359	-303 359	-1385 359	-1453 359	-2432 359	949 362	-2013 359	489 359	-396 359	2571 359	-326 359	479 359	692 359	359
-5963 96	-6620 96	-3968 96	-152 96	-1307 96	-2846 96	-1076 94	-2446 96	-1733 96	-1766 96	-2452 96	-2358 96	-2079 96	-725 95	-1029 96
509 45	-6423 45	618 45	799 45	2129 45	1633 45	-527 46	-2239 45	-1204 45	334 45	969 45	248 45	1738 45	-215 44	45
4130 394	2571 394	4470 394	-352 394	-2633 394	-3380 394	1707 392	-2982 394	-190 394	-899 394	-3755 394	2730 394	-888 394	-2082 396	572 394
-5051 276	-6403 275	1332 275	-601 275	2667 275	-2943 275	1536 276	2323 275	570 275	952 275	-2348 275	-540 275	1724 275	798 274	1037 275
-5889 -720	-3454 -720	-1911 -720	44.	-2060 -720	-718 -720	-1891 -722	435 -720	164 -720	-2338 -720	67 -720	-3144 -720	1961 -720	-1448 -722	1556 -720 /32
-6774 -466	-3617 -466	-639 -466	-2213 -466	-2964 -466	1010 466	-2811 -467	643 -466	-2950 -466	-1745 -466	-3834 -466	-1959 -466	-1529 -466	-2336	-2254 -466 4, Blatt 6/32
-6122 210	-6592 210	-4156 210	1661 210	-803 210	893 210	-570 209	-2581 210	-1258 210	421	-740 210	-903 210	-325 210	2146 209	-553 210 Tabelle 4,
-6474	2424 -626	-775 -626	4164 -626	-2981 -626	1966 -626	-2855 -628	360	-186 -626	437	-3769 -626	-1615 -626	-3903 -626	-2329 -628	-2151 -626
-5862 106	• •		•	-					-220 -1655 106					
4440 399	-701 -6661 399	-701 -4420 399	-701 -3593 399	-707 -285 399	-3348 339 399	4936 -2321 399	2933 399	.1469 663 399	-2824 700 399	39 73	-707- 1882 399	296 399 399	-3323 -1985 -400	-3400 -399 -2793
-6753 -381	-1115 434 -381	-1115 2792 -381	-1115 -4413 -381	-1115 -3251 -381	-1115 867 -381	-1115 -238 -382	-3232 -1199 -381	-1115 -3181 -381	-1115 -3461 -381	4084 -381	-1115 -4352 -381	-1115 -4152 -381	-1115 -2616 -377	300 381 1115
														54. 84. 84. 84.
														-9339 1350 233 -9639
-500 -500	-10485 -4065 -500	-10485 -2708 -500	-10485 -4092 -500	-10485 1519 -500	-9133 -1625 -500	-8949 -2799 -501	-346 -1247 -500	-8627 -2991 -500	-9564 -3225 -500	-9692 -3860 -500	-10485 -4050 -500	-10485 -3831 -500	-10182 -2330 -501	-369 -2294 -500 -8597
-1240	-108 -149	-1405 -149	-1- -862 -149	-1356 -1559 -149	-188 -1792 -149	-91 -1348 -147	-4027 -1398 -149	-455 -149	-3 1379 -149	448 -149	-1 -1625 -149	-305 -1428 -149	-1921 372 -150	-2157 1078 -149 -5
67	. 89 .	. 69	. ۶ .	٠۲.	. 2 .	٠٤.	. 4.	. 22 .	. 92 .		. 82	. 6.	. & .	. 22

115	116	117	118	119	120	121	52	123	124	125	126	127	128	129
586 -249	1312	-3646 -249	3879 -249	-377 -249	-3593 -249	4874 -249	68 -249	-2821 -249	1751 -249	-6167 -249	4054 -249	2168 -249	-3576 -249	-2770
-3117 -294	-3289 -294	3835	3566 -294	1896 -294	-4268 -294	-5332 -294	3763 -294	1008 -294	-3990 -294	-7280 -294	2046 -294	-294 -294	-4259 -294	-3119
-2555	888 -369	-971 -369	-1321 -369	-3356	-1529 -369	-8017 -369	-4791 -369	303	.369	-6580 -369	-5902 -369	-1293 -369	-3698	1299
-1401	1403	-2625 117	-1573 117	327 117	-2571 117	-7664 117	4588	1879	1253	-5057 117	-6877 117	688	-1214 117	-212 117
1813 359	-1806 359	1681 359	-4205 359	-2604 359	-221 359	-7573 359	4603 359	-3509 359	431 359	1074 359	-6653 359	-2503 359	493 359	-3381 359
948 96	-1680 96	-2419 96	-4784 96	-2483 96	835 96	-7762 96	-291 96	-3980 96	1137 96	-5802 96	-6780 96	687 96	-234 96	-3795 96
717	1771 45	-845 45	-3872 45	477	-1811 45	-7730 45	2387 45	-1144 45	801 ⁻	-3990 45	-6136 45	-278 45	1009 45	-947 45
2523 394	892 394	-3744 394	-5163 394	-3773 394	340	-7408 394	-5620 394	1915 394	-3805 394	-5333 394	-7227- 394	-3689 394	-3669 394	-235 394
1555 275	669 275	-436 275	894 275	819 275	-2248 275	-7492 275	4314	4068 275	-2438 275	1976 275	-6040	290 275	586 275	-690 275
-2024 -720	861 -720	-3231 -720	-4205 -720	1397 -720	-3172 -720	-7577 -720	233	509 -720	-2840 -720	-6541	4944 -720	-563 -720	-3165 -720	-1867 -720 7/32
-2949 -466	-3004 -466	-4148 -466	4801	-1593 -466	-1785 -466	-7590 -466	4709 466	411	-1726 -466	-7097 -466	804 -466	4095	7	-3896 -389 -1 210 -466 · Tabelle 4, Blatt 7/32
-675 210	-1198 210	-1910 210	4308 210	2003	1129 210	-8274 210	4122 210	4177	-549 210	4767 210	-7412 210	1727 210	1377 210	•
-3003 -626	-2923 -626	4191 -626	-4659 -626	-3673 -626	4135 -626	-8217 -626	4906 -626			-7248 -626	-269 -269	4144	406 -626	2635 -626 *
1474	456 -1560 106		-1378 -3742 106				•	•	•	•	-	-1378 -2255 106		
-139 399	-1884 -482 399	-40 1513 399	-701 -1300 399	-701 -712 399	-701 2727 399	5 5 8 8 8 5	-701 -5588 399	-701 -1500 399	-701 -3717 399	-701 4711 399	-701 -7404 399	-701 -129 399	-707- -1729 399	-1141 -438 399 -2010
-3253 -381	-1115 -3246 -381	-1115 -446 -381	-1115 -3695 -381	-1115 612 -381	-1115 -4392 -381	-115 -4839 -381	-1115 -296 -381	-1115 -2659 -381	-1115 -791 -381	-1115 -7225 -381	-1115 2273 -381	-1115 997 -381	-1115 -4397 -381	-1115 1107 -381 -1115
-749 43	894 33 43	-894 -1124 43	-894 -3445 43	-894 118 43	-894 -1940 43	-894 -8171 43	4360 4360 43	-894 -4581 43	-894 43 43	-894 -2998 43	-894 -7846 43	38 4 43	-894 1265 43	-894 -1657 43 -894
														4571 -1277 233 -172
-2933	-9004 -3035 -500	-9540 -4137 -500	-10485 -4768 -500	-10485 -3799 -500	-10485 -4079 -500	-10485 -6752 -500	-10485 -5065 -500	-10485 -2705 -500	-10485 -3709 -500	-10485 -6628 -500	-10485 -5996 -500	-10485 1093 -500	-10485 -4076 -500	-10466 191 -500 -10404
														-63 -843 -149 -3167
82 .		, \$. 8.	, & ,	- 84	. & .	. & .	. 8 .	. 5.	. 85 .	, 60 ,	. 99 .	. 82 .	. 98

-					• -			19 / 4	3				- *		
	130	131	133	135	136	137	138	139	147	148	149	150 151	152	153	
	-2027 -249	-2538 -250	-3941 -250	-2632 -249	207 -249	-399 -249	-398 -249	3458 -245	-8752 -249	-6141 -249	-3574 -249	-3606 -249 -4008	-249	-249 -3595 -249	
	-2803 -294	-2844 -295	-3457 -295	-3068	1778 -294	-4297 -294	4264 -294	1011 -295	-7448 -294	-6593 -294	737 -294	4289 -294 4718	-294	-294 -294 -294	
	-2240 -369	-3074 -370	-3694 -370	2883 -369	-3455 -369	-3735 -369	-3694 -369	-2996 -370	-9303 -369	-5291 -369	-3663 -369	-3728 -369 -4156	-369 -3551	-369 -3708 -369	
	-1032 117	-2358 117	-2690 121	-1613 117	-987	1324	-327 117	-3702 116	-8516 117	2942	93 117	-943 117 267	117	117 -2566 117	
	-857 359	-2273 359	-2545 360	-3175 359	-2246 359	685 359	-2504 359	-972 358	-8693 359		-1552 359	-197 359 -2886	359	359 -2510 359	
	-923 96	-1363 96	-3496 96	-3705 96	96 98	111 96	1767 96	-1239 95	-8185 96	-5305 96	1077 96	-2354 96 -2794	96	96 1456 96	
	1472 45	4302 45	-3435 45	-3484 45	415	-1812 45	1077 45	4509 44	-8612 45	4557 45	-1811 45	1321 45 1329	45		
	-1882 394	-2844 393	-3114 393	-3714 394	-753 394	2651 394	-914 394	-5245 393	-7614 394		-3697 394	•	•	394 -3695 394	
	2478 275	-1799 275	-3019 275	-3542 275	1923 275	-909 275	693 275	4706	-8451 275	2043 275	832 275		•	275 -2240 275	
	-1777 -720	-2741 -721	-3905 -721	-405 -720	-204	-3203	-611 -720	248 -721	-9067 -720	•	2254	•		-3179 -720	8/32
	-2629 -466	-3149 -466	4384	485 466	-3850 -466	-4129 -466	-2352	656	-9145 -466	-6428	466			466	Tabelle 4, Blatt 8/32
	-340 210	-1247 -1247 216	-3631 210	-3640 -3640 210	-1579 210	-1854 210	1057	4991	-8750 210	•	1377 3 210	210	4		Tabelle
	-2699 -626	-3343 -627	•	2486 -626	-3903 -626	4184	278	-3059	-9779 -626	-6315 -626	-1878 -626	4178 -626			1
		•	•	•										-1378 -2260 -2260 -106	
	•	•	· ·	•										399 399 399 1 399 5 -701	
	•	• •		•	• •									3 -381 4 -1115 8 349 3 -381 4 -1115	
														- 655 - 685 - 684 - 688 - 7	
						•	•							-,421 0 233 5 -11527 8 921 0 233 5 -11527	
						•	•	•		•	•	•	•	9 -500 1 -10485 1 -4088 9 -500	
	-1053	•		• •	•		•							-2036 -149 -1 -1 -149	
	97	, 8	66 .	, ĕ ,	۰ ۾ ،	, ë ,	, 5 ,	, è ,	, 후 ,	, ₽ ,	,₽,		2 3	£ E	,

154	155	156	157	158	159	160	161	<u>\$</u>	165	166	167	168	169	170
-3593 -249	-5560	-2869 -249	-3593 -249	-3593 -249	-2956 -249	-3626 -249	-3594 -250	1099 -249	-6213 -249	-6132 -249	-879 -249	-4952 -249	2516 -249	-178
-4276 -294	-5316 -294	-3212 -294	4276 -294	-4275 -294	-3290 -294	-4310 -294	-295	-4211 -294	-7269 -294	-6437 -284	-294 -294	-5359 -294	-4941 -294	-3169 -294
-3715 -369	-1221 -369	2286 -369	-1701 -369	-709 -369	-1125 -369	-3750 -369	-3716 -369	-301 -369	-6437 -369	1873 -369	-3743 -369	2891 -369	927	1788 -369
790	-5820	-987 117	225 117	240	-120 117	-2593 117	117	-3042	4937	4901	-2591 117	-1543 117	4885	-868 117
1015 359	-7412 359	-966 359	1104 359	-11 359	-3656 359	1338 359	607 359	-3147 359	-2007 359	-6879 359	-1594 359	-5571 359	-6091 359	-3518 359
947	-7056 96	-1047 96	434 96	1256 96	4122 96	-370 96	-743 96	2466 96	-5831 96	-7325 96	1372 96	-6093 96	-6253 96	3890 96
1276 45	-6322 45	-3853 45	896 45	-20 45	-3938 45	446 45	1166 45	-2376 45	-4063 45	-6988 45	274 45	-5902 45	-5815 45	-3812 45
-3687 394	-7137 394	-4520 394	-3686 394	-3686 394	-4607 394	-3715 394	-3687 396	4233 394	-5315 394	-7096 394	-3717 394	-6258 394	-6505 394	-4482 394
1180 275	-7863 275	4118	505 275	-565 275	-4215 275	354 275	905 275	1224 275	1612 275	-7139 275	437	-6010 275	-6548 275	4079
-3182 -720	3310 -720	1448 -720	-3182 -720	-3181 -720	1479 -720	-3218 -720	-462 -721	-3119 -720	-6482 -720	3054 -720	-3209 -720	-3205 -720	2572 -720	2374 -720 32
4109	2757 -466	-612 -466	4108 466	-1864 -466	731 466	4143	4110 466	72 466	-7077 -466	-1180 -466	-1561 -466	479	187 466	1545 2466 Blatt 9/32
466 210	-7602 210	4229 210	30,	1260 210	4323	1226 210	210	1571 210	4837 210	-7240 210	3130 210	-6139 210	-6544 210	4190 210 * Tabelle 4,
-4165 -626	-2909 -626	2502 -626	4164	4164	-753 -626	-4200 -626	-4166 -626	-3757 -626	-7191 -626	3162 -626	4190 -626	2243 -626	2833 -626	-173 -626 *
231	-1378 -6821 106	-1378 -3348 106	1378 106 106	-1378 -2252 106	-1378 -3442 106	-1378 4466 106	-13/8 -2253 105	-1378 -455 106	-1378 4350 106	-1378 -7387 106	-1378 -196 106	-5646 -5646 -106	-1378 -5739 106	-1378 -3305 106 -1378
399	-701 -8030 399	-701 4472 399	-707- 386- 399	-3593 399	-701 4568 399	. 1262 399 399	5 8 8 9	4.68 399 399	3376 399	-701 -7480 399	-701 -3625 399	-,636 399 399	-701 -6889 399	-701 -745 399 -701
-381	-1115 -3477 -381	-1115 -2702 -381	-1115 -4414 -381	-1115 -4413 -381	-115 -381	-1115 -778 -381	-1115 -381 -381	-451 -8451 -884	-1115 -7197 -381	-1115 -4589 -381	-1115 -444 -381	-1115 -381 -381	-1115 -385 -381	-1115 719 -381 -1115
1072	-894 -7805 43	463- 463- 43-	8 8 8 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-894 1390 43	4725 43	-894 -729 43	1669 43 43	-985 -2721 43	-894 -3086 43	-894 -7267 43	-894 -1952 43	-894 -6365 43	-894 -6825 43	-894 -4595 -894 -894
406 233	-11527 -8381 233	-11527 -5265 233	-11527 1870 233	-11527 -316 233	-11527 -5358 233	-11527 -124 233	-11527 122 235	-11527 -3344 233	-11527 1052 233	-11527 -7600 233	-11527 -1060 233	-11527 -6830 233	-11527 -7390 233	-11527 -5231 233 -11527
														-10485 -2711 -500 -10485
564 -149	-1 251 -149	-1 -305 -149	-1 884 -149	-1 1572 -149	-1 2346 -149	-1 -2653 -149	-1 1456 -149	-35 -149	-1 4722 -149	-1 -4922 -149	362 -149	-2157 -2157 -149	-1 -4973 -149	790 -149 -1
112	. # .	114	115	116	117	. 5 .	. 119	, 120	121 .	122	· 1 23 ·	124	125	126

171	172	173	174	175	2	171	178	179	180	181	182	183	184	185
-8581 -249	-324 -249	-6084 -249	427 -249	-8424	-249	-30 -249	-6703 -249	1492 -249	-3593 -249	560 -249	-3493 -249	1218 -249	750 -249	-2097 -249
-7444 -294	-3163 -294	-6601 -294	-3192 -294	-7395 -294	-294	-3326 -294	-6797 -294	140 -284	-4275 -294	4263 -294	949 -294	4543 -294	-2942 -294	-2795
-9400 -369	2047	3649 -369	1465 -369	-9174	-369	-2318 -369	-5159 -369	-1825 -369	-1325 -369	-1321 -369	-799 -369	-3487 -369	-2372 -369	-2193 -369
-8607 117	-1213 117	-1808	400 11	-8336	117	2538 117	828 117	742 117	-1029 117	-91 117	-699	117	-125 117	-1103
-8688 359	-1769 359	-6521 359	-3541 359	-8424 359	326 359	996 359	2399 359	621 359	74 359	1029 359	-287 359	328 359	-1150 359	-1014 359
-8076 96	-3983 96	-7177- 96	4013 96	-8070 96	96 96	55 86	-6089 96	-643 96	-903 98	-2346 96	-1129 96	86 86	96 96	96 96
-7951 45	-3806 45	-6970 45	-3835 45	-8282 45	-85/0 45	-3300 45	-5833 45	-1802 45	-7 45	385 45	-1753 45	-1587 45	44 55	318 45
-7557 394	4476 394	-6944 394	2203 394	394	-/683 394	4375 394	-5088 394	954 394	-3686 394	-3690 394	1318 394	480 394	-2307 394	-2136 394
-7636 275	4072 275	-6853 275	4101 275	275	275	-3660 275	230 275	-505 275	366 275	437 275	-846 275	356 275	-805 275	1416 275
-9042 -720	-213 -720	-3609 -720	909	-8951	-9078 -720	3125 -720	96 -720	-3161 -720	-3181 -720	-3166 -720	-3053 -720	-2959 -720	-1855 -720	2728 -720 0/32
-9096 -466	665 466	-944 -466	-885 -466	-9057	-9076 -466	-2749 -466	-6626 -466	4081	4 4 66 466	-2342 -466	-1650 -466	-3882 -466	-2766 -466	-2593 2 -466 -
-8307 210	4183 210	-7025 210	4212 210	-8487 210	-8678 210	210	-6284 210	-1843 210	210	-691 210	-923 210	216	-510 210	-426 210 Tahella 4
-9750 -626	574 -626	452 -626	1709 -626	-9658 -626	-9783 -626 *	-831 -626 •	-6377 -626	4123	4164 -626	4133	-907 -626	-3930 -626	-2816 -626	-2615 -626
•			•	-1378 -7642 106 -1378										
399	399 399 399	-701- -7157 399	-701 -4455 399	-707- -7075 399 -701	399	4315 399 209	1671 399	399 399 201	399	389 651	-/- 685 399	180 399 399	1269 399	-5116 -1952 399 -5240
-8700 -381	-1115 2004 -381	-1115 -4907 -381	-1115 2039 -381	-1115 -8516 -381 -1115	-8089 -381	-1113 -2867 -381 -381	-1113 -6579 -381	4380 -381 -381	2 5 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	- 38 - 38 - 38	-1210 -384	-115 -4183 -381 -445	384	-2871 -2874 -381 -1115
-7396 43	4588 438	-894 -7072 43	-894 -4616 43	8023 43 894	88 84 84	285 45 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54	-6508 -43	-894 -245 -43 -64	1711 43	-894 -1115 -43	4 8 4 5 8 5 8	-89- -1713 -43	2171	-894 130 43 -894
4232 233	-11527 -5224 233	-11527 -7392 233	-11527 -5251 233	-11527 -7637 233 -11527	-8125 233	4429 233 233	6380 233	11446 1810 233 1531	1113 1113 233	-11527 1337 233	233	233 233 233	23 8 5	-1848 1260 233 -9077
-7310 -500	-10,485 -2,705 -500	-10485 -4206 -500	-10485 -2728 -500	-10485 -7138 -500 -10485	-7286	2002 2003 5003	-10485 -4014 -500	-10404 1078 -500	2697 2697 2608-	-10485 -108 -500 5	-10485 -3956 -500	-10404 -3868 -500 -500	-2754 -2754 -500	-8501 -2588 -500 -8034
				-1 -8077 -149 -1										
127	128	129	130	. 131	132	. 133	, 1 34	135	136	137	138	139	. 40 .	. 4

Tabelle 4, Blatt 10/32

186	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208
-1686 -231	-2253 -249	21 -249	-3291 -249	885 -249	1373 -249	-3593 -249	-6 -249	763 -249	1094 -249	-3192 -249	151 -249	1996 -249	-1766 -249	3252 -249
-2296 -297	-2606 -294	-3893 -294	-3973 -294	-3077 -294	215 -294	-4275 -294	-4099 -294	-294 -294	-251 -294	-3875 -294	-3592 -294	-1721 -294	-2296 -294	1226 -294
1220 -372	-259 -369	225 -369	-888 -369	1238 -369	454 -369	-1243 -369	-369	-3676 -369	-3688 -369	-3314 -369	-452 -369	1038 -369	999	-3334 -369
-803 117	-141 117	-72 117	-2257 117	622	603	-898 117	-2387	-297 117	114	231	247	-1269	70 417	117
-805 359	417 359	459 359	-219 359	1858 359	-2853 359	1141 359	1401 359	699 359	-320 359	975 359	336 359	-1846 359	-1181 359	135 359
-670 97	-3220 96	÷ 8	1139 96	-3529 96	929 96	-727 96	-2170 96	-1007 96	1407 96	-174 96	-841 96	505 96	819 96	-2026 96
1549 46	-2979 45	2002	-1492 45	-3244 45	-2359 45	265 45	-1622 45	-614 45	-1771- 45	852 45	979 45	-1890 45	-605 45	104 45
-1971 391	-3816 394	-770 394	1280 394	4203 394	-3976 394	-297 394	-711 394	-639 394	-3665 394	1163 394	1995 394	-2850 394	-2327 394	-3366 394
-564 273	-185 275	436 275	-1928 275	-3562 275	1631 275	-242 275	1137 275	924 275	-5 275	2037 275	-1876 275	-2208 275	861 275	1348 275
-1164 -723	-1354 -720	-2798 -720	-2878 -720	-1830 -720	-2491 -720	628 -720	-3004	-3148 -720	-3156 -720	-2781 -720	-110 -720	-476 -720	-1123 -720	-2816 -720 /32
-2011 -462	-666 -466	-3723 -466	-3804 -466	-2487 -466	-140 466	-1722 -466	-788 -466	-1180 466	-1755 -466	-1337 -466	-369 -466	-1132 -466	-1901 -466	-1250 -2 -466 -
1106 210	-3285 210	973 210	784 210	-3505 210	-1401 210	1639 210	857 210	1549 210	210	-225 210	631 210	-2150 210	-674 210	877 210 * Tabelle 4,
640 -629	-133 -626	93 -626	-293 -626	180 -626	-672 -626	4164 -626	-3982 -626	-1749 -626	4136 -626	-3764 -626	-3229 -626	727	-179 -626	
.555 103	-2613 106	-577 -1875 106	-385 -1951 106	273 106 106	-3484 -299 -299 -299 -299 -299 -299 -299 -29	-1378 -236 106	5 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-2384 -2233 106	-776 -2230 106	-776 -1851 106	2. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6. 6.	-1624 106 106	4 % & &	-1934 -1934 -2793
399	3761 399	-1601 -3216 399	.2093 .251 .399	38 38 38 38 38	. 289 399 399	-701 399 399	5 6 8 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9	1035 1035 1035	-1265 1273 399	-1265 -384 399	382 382 399	399	-2242 -399	-3274 -329 -225
-2257	3508 -381	-1115 -448 -381	-1115 -4108 -381	431 381 381	-1115 814 -381	-1115 -381	-285 -384	-115 -429 -381	-1115 -1161 -381	-1115 -4013 -381	-1115 588 -381		384	-1115 -381 -1115
43	-1/84 -3609 -43	613 43 613	-894 1980 43	-894 -3784 43	-949 -911 -911	-894 486 43	43 43 43	-894 -1902 -43	-894 597 43	\$ 4 4 \$ 5 4 8	\$ 5. 43. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5.	1286 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43	4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5	\$ 4 5 8 4 6 5 4
1060 232	23 23 23 24 23 24 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25	-10840 906 233	-11084 737 233	-11175 527 233	-136 -23 -23	-11527 -1124 233	-2953 1012 233	-11328 257 233	-159 1484 233 234 237	-1915 162 233	-3849 -2140 -233	3028 -3028 -303 -303 -303 -303 -303 -303 -303 -30	2293 233 233	-9342 -466 233 -11141
-2043	-2153 -2153 -500	-9798 -3708 -500	-10042 -3789 -500	-10133 -2632 -500	-10298 -3328 -500	-10485 -4092 -500	-10485 -3914 -500	-10286 -4057 -500	-10459 -24 65 -50 64	-10459 -3692 -500	-10015 -3339 -500	252- 2506- 2506-	-1974 -500 -500 -500	-8499 -3722 -500 -10099
-863 -149	-3199 491 -149	-2 -258 -149	-2 -375 -149	-2 -149	-2 66 -149	735 -149	-456 -456 -49	-2 606 -149	-2- -673 -149	86 5 5 6 5 5 6 5 5 6 5 5 6 5 5 6 5 6 5 6	2,161 2,161 1,48 1,48 1,48 1,48 1,48 1,48 1,48 1,4	356 -149	4 4 4 6 4 6	-2293 -149 -2
. 145	143	'≨'	145	146 -	147	148	149	150	. 15.	152	153	. 154	155	156

209			210			211			212			213			214			216			22			222			223			224			225			226			228			230			
-3562	-249		-3591	-249		3644	-249		3076	-249		799	-249		-1882	-250		-2477	-246		-2876	-249		-2978	-249		-2933	-249		396	-249		283	-249		1930	-250		878	-250		934	-249		
4245	-294		4273	-2 <u>9</u> 4		3651	-294		392	-294		-3157	-294		-2552	-295		5731	-296		-3540	-294		-3663	-294		-3580	-294		2038	-294		1726	-294		-2759	-295		-2670	-295		-2985	-294		
	-369		-1229	-369		-2136	-369		-1763	-369		-55	-369		-1974	370		-2563	-371		-2946	-369		-3102	-369		-2961	-369		559	-369		ဇ္ဇ	-369		4	-369		-2086	-370		-2411	-369		
-343	117		-95	117		-1205	117		374	117	_	-877	117		-870	117		-3190	124		-1878	117		503	117		-197	117		-1519	117		-1228	117		-1202	117		-984	116		735	117		
374	328		-152	328		-3446	328		-716	329		467	329		-819	328		-3721	328		-579	329		-1881	329		-749	329		326	329		-1	328		1631	329		578	358		-146	329		
1582	96		-2341	8		-3866	8		-131	96		-3570	96		5	95		811	102		1608	98		-1730	98		<u>-</u>	96		1463	96		566	96		-1111	96		-792	92		-1078	98		
÷	45		1057	45		-3647	45		1070	45		-716	45		-114	48		-3265	4		-1136	45		890	45		-1239	45		-1054	45		84 84 85	45		-531	45		-223	4		1242	45		
457	394		-3687	394		4423	394		-940	394		-839	394		505	393		4583	392		-720	394		2752	394		1374	394		-2771	394		-2512	394		-2322	394		304	393		1812	394		
-972	275		894	275		-3930	275		107	275		610			-551	275		-3944	274		-1571	275		-230	275		-1673	275		-1474	275		-1261	275		1424	275		2156	276		385	275		
-3151	-720		-3178	-720		-1920	-720		48	-720		-1911	-720		-1454	-721		-2102	-722		-2437	-720		-2571	-720		-2471	-720		-1548	-720		-1144	-720		-1644	-721		-1575	-721		-1887	-720		222
4078	466		-4104	466		-2566	466		-3982	466		4	466		-2368	467		ģ	467		-1045	-466		-3496	466		-3361	466		-2323	466		4	466		-2497	466		-2483	467		-2806	466		DI2# 12/22
492	210	•	546	210	•	404	210	•	ဗို	210	•	-3527	210	*	1092	210	*	-2773	209	*	932	210			210		-200	210	•	1980	210	*	295	210	•	611	210	•	-280	210	•	253	210	*	Laholla A
4134	-626	*	-244	-626	•	496	-626	*	4021	-626	•	2092	-626	*	-2402	-627	•	-722	-628	•	-3361	-626	*	-3551	-626	•	736	-626	•	-367	-626	•	17	-626	•	-2438	-626	•	-2514	-627	•	708	-626	•	•
-2221	106	-2128	-2253	106	-1378	-623	106	454	288	106	-337	1129	106	-337	-568	105	-994	-3019	110	-250	1304	106	485	1157	106	-128	-1680	106	-75	-1385	106	ၯ	2322	106	4	-943	165	42	-672	5	-262	1428	106	-587	
1922	399	-375	-1508	388	-701	-253	339	-1890	-3507	388	-2264	-1395	33	-2264	352	399	-1006	-573	397	-2653	387	399	-1807	-2959	399	-3554	2536	399	-4297	<u> </u>	330	4838	665	333	-5043	991	<u>\$</u>	-5139	-1980	399	-2593	-2328	399	-1580	
4383	-381	-1115	-716	-381	-1115	1305	-381	-1115	939	-381	-1115	960	-381	-1115	867	-381	-5471	-2478	-375	-554	2742	-381	-1115	-76	-381	-1115	-3638	-381	-1115	48	-381	-1115	-2072	-38-	-1115	-2734	-376	418	476	-377	-5634	-3104	-381	-1115	
	43																					•																							
527	233	-11490	2756	233	4400	-1074	233	-5247	-1061	233	-11419	693	233	-361	-791	232	-2219	-5235	234	-3688	-426	233	-2475	1563	233	-10730	-1920	233	-1549	277	233	-1978	496	233	-2500	528	233	-3213	1476	234	-9308	-1208	233	-3259	
-4062	-500	-10448	-4089	-200	-10485	579	-500	-10415	1605	-20	-10377	581	-500	-10377	-2360	-20	-539	-3172	-501	-2618	-3339	-500	0996-	-3480	-50	-9688	-3357	-500	-9729	-2399	-200	-9127	-1986	20 20	-8707	-2465	-20	-2243	-2476	-501	430	-2795	-200	-8878	
7	-149	-5	99°-	-149	-71	-2856	-149	8	-540	-149	-5	-1573	-149	-2181	591	-144	-3368	-3247	-150	-397	99-	-149	-288	-2004	-149	Ġ	-569	-149	909-	-1580	-149	426	-1289	-149	-285	-1243	-149	-554	-1042	-147	-1964	-1350	-149	-163	
157			158			159			160			161			162			163			164		,	165			166			167			168			169			5		,	17			

Tabelle 4, Blatt 12/32

231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245
-2785 -249	-3323	2118 -249	1883 -249	-3592 -249	-3592 -249	-4 -249	-203	1322 -249	232 -249	-108 -249	1901 -249	-21 <i>77</i> -249	-197 -249	-2111
-3467 -294	-294 -294	-4130 -294	-4209 -294	297 -294	845 -294	481 -294	4209 -294	4896 -294	4160 -294	1938 -294	2626 -294	-2606 -294	-914 -294	-2813 -295
-2903 -369	-369 -369	-1248 -369	-1669 -369	-721 -369	-3713 -369	-2547 -369	-3645 -369	-2623 -369	-805 -369	-3331	-1490 -369	-2378 -369	1288 -369	-2249
-1754	776 117	182 117	685 117	-277 117	-2558 117	1668	-261 117	-2582 117	-2465 117	-951 117	-1666 117	-1706	-1131 117	-1083 118
-1696 359	-54 359	-1474 359	602 359	1339 359	-313 359	856 359	-2440 359	-687 359	-30 359	1714 359	-1971 359	-1793 359	-1740 359	1444 360
96	-2070 96	510 96	-221 96	-2340 96	-161 96	-2982 96	98 98	-2825 96	776 96	475 96	-2041 96	-125 96	-2179 96	-88 -95
1554 45	-364 45	-215 45	396 45	717	-319 45	-985 45	-696 45	-2357 45	-1708 45	-233 45	-1614 45	-700 45	-1948 45	-289 44
-2882 394	-1235 394	1475 394	-3669 394	1610 394	2452 394	-1550 394	394	-3922 394	-3597 394	954 394	-3040 394	-2710 394	-2704 394	393
209 275	2270 275	68 275	-720 275	1312 275	-74 275	1208 275	2707 275	410 275	1359 275	-183 275	1516 275	-1481 275	-2183 275	1169
-2372 -720	-2911 -720	-3029 -720	-440 -720	-3181 -720	-3180 -720	-2265 -720	-3114 -720	784 -720	-3062 -720	-2800 -720	-1203 -720	-1910 -720	-222 -720	-1732 -711
-1030 -466	-3838 -466	425 466	-909 -466	4107	-2357 -466	-154 -466	4039	-745 -466	-1018 -466	-3725 -466	-113 466	-2624 -466	-789 466	-2643 -1 -467 - Blatt 13/32
-123 210	86 210	-813 210 *	-267 210	-668 210	293	-218 210	-165 210	677 210	665 210	220	374 210	2194 210	-2327 210	768 210 * Tabelle 4,
-342 -626	-3893 -626	-3970 -626	72 -626	4163 -626	-1208 -626	-2692 -626	-265 -626	-1152 -626	925-	-3778 -626	-1618 -626	-2650 -626	451 -626	-2701 -627 T
-1448 106 -1333	-1982 106 -1227	-204 106	662 106 106	1865 106 106	-2252 -2252 106	-2689 106	5 2 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	基 % 	-33 1233 106 106 106	\$ 4 6 5	3226 106	3935 106	2355 106	1333 105 17-
2235 399 -729	399 399 804	399	3576	399 399 707	8 8 8 5 8 8 8 5	3 3 3 5	96 66 6 96 66 6	-1898 -1900 399	-2289 1000 399	399	-3/33 -374 -399 -399	399	2639 399	-3526 -1997 402 4371
-3601 -381 -1115	-796 -381	108 -381	381	-512 -384 -381	-381	.381 .381	384	-1115 1324 -381	-1115 -4278 -381	-126 -384 -381	387 -381	-2813	38.	-2942 -379 -5656
277 43 -894	64 84 84 84	96 43 64 83	231	\$\frac{1}{2} \text{ \$\frac{1}{2} \$\frac	43 43 43	-2796 -2796 -2796	-1860 -1860 -1860	-1101 -101 -101	488 438 438 438 438 438 438 438 438 438	-1543 -434 -43	-894 -1929 43	-1434 43 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64	-2703 -2703 -2703	-304 -304 -29 -29
-343 233 -10552	826 233 -11213	212 233	932	-11492 757 233	1936 1936 233	339	1745/ 1509 233	-5163 -1026 233	-11416 89 233	23 30 5	2481 233 233	-2132 -233 -233	7,556 7,566 7,566	-8800 1948 232 -3129
-3282 -500 -9510	-3822 -500 -500	1292	-4012 -500 -500	-10450 -4092 -500	- 45 - 50 - 50 - 50 - 50 - 50	1548 1548 1548	-10415 1368 -500	-10415 -3153 -560	-10374 280 580 500 500	-103/4 -3710 -500	-10043 -2015 -500	2872	2374	-7758 -2630 -501 -343
545 -149	274 -149	-2513 -149	449 449 450	-2 -1215 -149	-149 -149	- 149 - 149 - 149	4 2 5	-2642 -149	-2526 -149	-486 -486 -49	-1263 -1728 -149	-1036 -1792 -149	-10 -1771- -149	-10 -1135 -150 -3365
172	173	174	175	176	· t ·	178	179	. 9 .	. 26 .	182	183	· 2	185	186

247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	269	270	27.1	272	273
-1021 -249	1888 -249	-3234	-2875 -249	426 -249	-249	-3592 -249	2849 -249	-674 -249	2144 -247	-2255 -249	901	-768 -249	456 -249	-294 -249
2758 -294	-3039 -294	2959 -294	1221 -294	881 -294	-294 -294	-4274 -294	4853 -294	-4273 -294	2619 -299	3157 -294	4222 -294	2947 -294	1920 -294	1107
695 -369	296 -369	-1479 -369	-2411 -369	-1263 -369	-1321 -369	-1544 -369	-285 -369	-3710 -369	-1164 -373	251 -369	-3644 -369	-1236 -369	-1719 -369	1460 -369
316	127-	¥ 1 1	-339	-2475 117	1918	-1387 117	-2936 117	1105	22 115	-1505 117	501	342	537 117	1032
-1607 359	-255 359	-1247 359	407 359	-2430 359	1892 359	-571 359	-3351 359	1339 359	-179 355	-1533 359	28 359	-1119 359	-1397 359	276 359
-2039 96	-2529 96	377 96	775 96	-2278 96	-2315 96	877 96	-337 96	-500 96	8 20	1509 96	392 96	-2376 96	-979 96	1309 96
-1816 45	-2080 45	-360 45	-2242 45	1150 45	44 45	1413 45	-3116 45	419 45	-1902 43	-925 45	-1774 45	-289 45	787 45	494 45
426 394	-3569 394	-3360 394	-3773 394	.896 394	988 394	-126 394	-116 394	-3687 394	-3723 392	-2656 394	-3662 394	-352 394	-3692 394	-915 394
-2097 275	-270 275	1385 275	-2639 275	462 275	998 275	1953 275	-3482 275	1221 275	1352 273	-1285 275	1018 275	551 275	1822 275	-1211
-115 -720	-1824 -720	-2803 -720	-106 -720	-3033 -720	-3156 -720	1183 -720	-2334 -720	-3178 -720	-2868 -725	-1733 -720	-3123 -720	-733 -720	458 -720	-2524 -720 4/32
-763 -466	366 -466	-1488 -466	-2837 -466	-1731 -466	4083 466	-2033 -466	-2999 -466	-1611 -466	-2136 -470	-2524 -466	-1214 -466	4007	-1157 -466	-2096 -2 -466 - 1, Blatt 14/32
-2140 210	-184 210	-593 210	-2347 210	-938 210	-571 210	472 210	-1015 210	-686 210	-204 215	-937 210	-151 210	-1876 210	241 210	-2404 210 Tabelle 4,
2394 -626	405 -626	-3744 -626	221	1393 -626	4138 -626	4160 -626	-2699 -626	• 633 • 626	-3617 -613	-2387 -626	-626 -626	4015	-1256 -626	-3036 -626
-1413 106	-1269 1783 106	545 514 106	-399 -2436 106	-1472 -119 106	-1640 -2227 106	-2003 -2252 106	-1378 -3014 106	-1378 946 106	-1378 -2309 105	-503 -1283 106	4268 888 106	-2128 -2279 106	-1378 297 106	-1378 -2591 106 -1378
399	-774 -3494 399	-1667 629 399	-2048 1605 399	2096 399 399	-558 -679 399	414 -1328 399	-701 -1186 399	-701 -353 399	-701 -3634 404	-1765 1705 399	-77 -3569 399	.375 399 399	-701 -359 399	-701 1545 399 -701
-875 -381	-1115 17 -381	-1115 2378 -381	-1115 -2988 -381	-1115 -4226 -381	-1115 -4387 -381	-1115 -4410 -381	-1115 1171 -381	-1115 -654 -381	-115 -644 -371	-309 -2697 -381	-1115 -843 -381	-1115 117 -381	-1115 678 -381	-1115 -3437 -381 -1115
-2485 43	8 8 8 8	-184 -43 -43	-894 -2484 43	-894 534 43 E	-894 -205 43	-894 -1919 43	-3498 -3498 43	48 43 43 43	-894 -2049 40	-2375 -1033 43	-894 -120 43	-89 -69 -69 -69 -69 -69 -69 -69 -69 -69 -6	28 th 130 th 130 th	-894 -2524 -43 -894
-3098 233	-9204 760 233	-10942 -894 233	-11132 2503 233	-11214 188 233	-11423 -740 233	-11498 1608 233	-11527 -128 233	-11527 -46 233	4628 2499 231	-502 1918 233	-9703 2073 233	-11490 619 233	-11527 669 233	-11527 -3081 233 -2142
-903 -500	-8161 2075 -500	-9900 1049 -500	-10090 811 -500	-10171 -3936 -500	-10381 -4067 -500	-10456 -4090 -500	-10485 -3142 -500	-10485 1393 -500	-10485 -3745 -504	-2761 -2503 -500	-8661 1340 -500	-10448 -290 -500	-10485 -4068 -500	-10485 -3362 -500 -10485
71	-1031 -149	-2286 -149	-2 -1217 -149	-2 -2536 -149	-2 -675 -149	-2 947 -149	-1 -2997 -149	-1 -2619 -149	-61 -2602 -149	-2772 -1540 -149	- 5 23 ÷	46. -149	-715 -149	255 256 -149 -372
187	188	189	190	. 19.	192	193	194	195	196	197	198	199	. 500	201

274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	787	285	286	287	288
-82 -249	-3033	3340 -249	3892 -249	1349 -249	545 -249	1525 -249	-3493 -249	1529 -249	933 -249	-3558 -249	423 -249	-302 -249	-5983 -249	-980 -249
2596 -294	-3716 -294	-3095 -294	1981 -294	-2837 -294	1764 -294	-3845 -294	-294	1616 -294	387 -294	-4240 -294	-3603 -294	-3492	-6886 -294	967 -294
-3387 -369	-3155 -369	-2402 -369	-2664 -369	-1983 -369	-2684 -369	-1520 -369	-1245 -369	456 -369	1464 -369	-3679 -369	-2567 -369	-1518 -369	-1142 -369	-654 -369
-2242 117	903	-1666	-3264	807	142 117	118	-512 117	-586 117	-2632	-699	-3287 117	-2728 117	117	117
-727 359	427 359	-103 359	-3714 359	-2695 359	-1551 359	-2285 359	57 359	-103 359	-138 359	1016 359	-3927 359	35 35 35 35	-4424 359	-6466 359
-20 96	-106 96	-1580 96	4029	-3320 96	307 96	-285 96	ထု မွ	-3814 96	-2823 96	176 96	4129 96	-1266 96	4984 96	-6445 96
2171 45	1841	-1027 45	-3667 45	-3050 45	-852 45	1464 45	-1705 45	-1052 45	-2344 45	5 5	2186 45	-2744 45	-3898 45	-5898 45
-3371 394	-3126 394	-2828 394	4637 394	-3786 394	-2735 394	-758 394	-3596 394	4392 394	859 394	-3651 394	4853 394	3169 394	-5270 394	-6720 394
-799 275	1763 275	399 275	895 275	133 275	989 275	-2045 275	1162 275	-3876 275	-659 275	-564 275	4298 275	-3124 275	256 275	-6796 275
-2857 -720	-2622 -720	-1979 -720	-2368	-1785 -720	-2170 -720	404 -720	-3075 -720	311 -720	-2439 -720	757 -720	2254 -720	-2270 -720	-6082 -720	-2327 -720
-1505 -466	-3549	-624 -466	-2869 -466	2182 -466	-3080 -466	508 466	-3997 -466	1539 466	-154 466	4073	2474 466	-1755 -466	-6721 -466	2782 -2 -466 .
-370 210	-128 210	-1096 210	4132 210	-3311 210	-894 210 *	-280 210	-1747 210	-1194 210	992 210	639 210	4185 210 •	-2878 210	210	-6862 210 *
744 -626	-3605 -626	-2710 -626	-2723 -626	-2113	-3105 -626	-3536 -626	-4043 -626	-641 -626 •	-1324 -626	4129	-2497 -626 •	-925 -626 •	-6772 -626 •	1643 -626 T
•				-2737 106 -124										
1090 399 -3540	.2698	339 399 -2964	4615 399 -2877	399	399 -653	399 399 691	399 -655	-1463 399 -1507	423 399 -1507	1974 399 -1507	5 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-1439 -701	4683 399 -701	-7248 399 -701
-4085 -381 -1115	-174 -381 -1115	1449 -381 -1115	2001 -381 -115	-2327 -381 -1115	-381 -1115	-987 -381 -1115	2729 -381 -1115	962 -381 -1115	984 -381 -1115	-381 -115	-387 -381 -1115	-3102 -381 -1115	-6927 -381 -1115	1022 -381 -1115
-92 43 -894	1521 43 -894	742 43 894	4425 43 43	-3458 43 -894	9 4 4 8 8 4 3	-89 43 43	689 43 94	-1870 43 -894	-132 -43 -89 -89	£ 4 8 5	- 48 - 48 - 48 - 48 - 48 - 48 - 48 - 48	-3038 -834 -834	-3094 -894 -894	-7163 43 -894
1430 233 -2438	351 233 -1297	301 233 -10257	-19 233 -3038	-3736 233 -3102	233 -10338	198 233 -11198	1162 233 -11411	222 233 -11487	580 233 -11487	510 233 -11487	-3033 -11487	-182 233 -11527	3855 233 -11527	-7698 233 .11527
-3767 -500 -10115	-3533 -500 -9821	-2850 -500 -9215	1610 -500 -9401	-2368 -500 -9392	-3074 -500 -9296	2770 -500 -10156	-3983 -500 -10369	-222 -500 -10445	-3274 -500 -10445	-4057 -500 -10445	-10445 -500 -500 -500 -500	-3082 -500 -10485	-10485 -10485	4986 -500 -10485
				-2272 -149 -181										
202	203	504	502	500	Š	208	209	30	Ę;	212	33	5 5	£	216

Tabelle 4, Blatt 15/32

289	290	291	292	293	294	304	305	306	307	308	309	310	311	315
-3587 -249	2080 -249	-264 -249	-3559 -249	-3629	1832 -246	-3877	1201 -249	-3593 -249	1757 -249	1633 -249	2186 ⁻	-357 -249	2148	-2821 -249
797 -294	3158 -294	-294 -294	-294 -294	880 -294	-4275 -281	-294 -294	-3297 -294	-4276 -294	-4275 -294	417 -294	-3509 -294	-4275 -294	4062 -295	-3163 -294
-3687	-2176 -369	-3714 -369	-3680 -369	-3751 -369	257 -366	3184 -369	1420 -369	-3715 -369	-587 -369	517 -369	149 -369	-3713 -369	-2858 -370	1575 -369
-2568 117	2462	-536 117	-2529 117	1292	188 116	445 117	-2751 117	-1255 117	-519 117	-15 44 117	117	88 117	-325 116	-956 117
-651 359	-1878 359	490 359	839 359	359	-13 360	4538 359	-714 359	210 359	-2500 359	-3507 359	-679 359	-1480 359	920	-319 359
-517 96	-3946 96	545 96	-653 96	-2379 96	-1255 93	-5031 96	2202 96	695 96	408 96	-3976 96	-237 96	309 86	-1991 95	-3981 96
-1810 45	885 45	723 45	-1757 45	-1826 45	£ &	-4849 45	2287 45	1796 45	679 45	-626 45	-1024 45	-1792 45	-1457 44	-3803 45
-3696 394	-955 394	-3686 394	-3651 394	2711 394	-1618 393	-5394 394	4274 394	-3686 394	-3686 394	4473 394	-1626 394	-3686 394	-3276 393	4475 394
3227 275	4017 275	619 275	3577 275	971 275	306	-5054 275	-3487 275	1775 275	354 275	-273 275	-1261 275	1611 275	-1883 275	4070 275
-440 -720	-193 -720	-3181 -720	-720 -720	-3220 -720	413	-2606 -720	460	-3182 -720	113 -720	2195 -720	245 -720	-3180 -720	-2425 -721	2050
4082 466	-71 -466	-116 -466	4072	-4146 -466	-2472 -466	-839 -466	-2725 -466	4109 466	-1668 -466	939	680 466	-996 -466	-3265 -467	466 .
495 210	4087 210	-158 210	279	-639 210	92 209	-5173 210	-1463 210	1025 210	366 210	-1151 210	1468 210	1126 210	-1511 212	210 210
-1255 -626	-2256 -626	-1840 -626	4127 -626	-4201 -626	4163 -625	230 -626	614 -626	-992 -626	4162	2094 -626	-228 -626	-1262 -626	-3174	1273 -626 -
-2266 106	-1378 2308 106	-2251 -2251 106	1378 1588 106	-2284 -2284 106	-2252 -103	4429 106 151	-3013 106	-2252 -2252 106	1269	-3293 -3293 -1378	-2787 106 -1378	-2252 -1378	-1863 111	-3297 106 -1378
-1778 399	-701 4433 399	98 8 88 8 88 8	-701 -3554 399	, 8 8 5 8 8 5	397	2 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	399	3 5 5 5 5 5 5 5	-1356 399	389	4035 399 -701	351- 399 105-	8 8 8 4	399 399 -701
-4380 -381	-115 -19 -381	381	-1115 -4379 -381	.381 2450	.383 .383	442 484 484 484 484 484 484 484 484 484	-2846 -381	4 8 5	3842	971 971 -381 -1115	-381 -381 -115	-381 -381	473	-381 -1115
-1938 43	-894 4455 43	2089 43	88 88 84 85 85 85 85 85 85 85 85 85 85 85 85 85	874 478 478 874	1607	-5505 -5505 -894	-3574 43	319	2053	4573 43 894	-1085 43 -894	904 43	1169 44 44	-1393 -43 -894
2159 233	-11527 -5076 233	-1152/ 844 233	232	233 233 24527	22. 23. 24. 24.	-3605 -6066 233 -1420	4164	1469 1469 233 241527	-1137 -137 233	-11527 -1848 -1527	-3504 233 11527	2196 233 233 2557	320	-5219 -5219 233 -11527
-1071	-10485 -2760 -500	-10485 -1092 -500-	-10485 -500 -500	-10400 -4130 -500 -500	4092 502-	1317 1317 -500	-2865	4693 666- 7866- 7866-	694	-2706 -500 -500	-3111 -500 -500	4094 -500 -500 -500 -500 -500	-330 -504 -504	-2705 -2705 -500 -10485
-1455	-1 -2908 -149	-1- -858 -149	-86 -2590 -149	-2 -1507 -149	260 -147	3 4 5 3	-149 -149	-651 -149	338 -149	-1252 -149	806 -149	149	8 5 7 4 4	880 -149 -1
217	218	219	220	. 53.	. 522	. 523	. 22	. 222	. 22 .	227	82	229	530	33

Tabelle 4, Blatt 16/32

316	317	327	328	329	330	331	332	333	336	337	338	339	340	25
-301	-3572 -240	2811 -249	-2874 -249	-256 -249	-3293 -249	1304	-2767 -249	-1082 -250	-2700 -249	992 -249	-4130 -249	-2979 -249	-844 -249	-6891 -249
-3293 -294	3083 -296	-3157 -294	5347 -294	-3212 -294	841 -294	1014 -294	1650 -294	-1510 -295	-3559 -294	2073 -294	-5001 -294	-3322 -294	-6560 -294	933 -294
871 -369	-3694 -371	-908 -369	621 -369	-383 -369	-3414	-3466 -369	465 369	1348 -370	-2978 -369	927	4358 -369	2418 -369	-5826 -369	-369
-1530 117	-33 121	-3037	-1348 117	-797 117	-2260	491	-2200	-658 117	1284	-1641 117	-3044	-2943	4466 117	4737
-82 359	-1371 358	-3721 359	-3489 359	15 359	-730 359	-2252 359	359	-950 359	-1436 359	-2332 359	-874 359	-3668 359	-171 359	-4523 359
-1673 96	805 97	-113 96	73 96	-1731 96	1351 96	655 96	-2465 96	-1069 98	-1746 96	-2804 96	-3239 96	414 96	488 98	-6872 96
-3227 45	44 44	-3991 45	-1018 45	-1240 45	-1494 45	607 45	-1959 45	-651 48	-724 45	-2626 45	1178 45	-3963 45	-3629 45	-6771 45
4314	-3665 395	4674 394	44 46 48 48	394 394	-3388 394	495 394	-315 394	-2034 393	-2376 394	-3297 394	-3695 394	4619 394	-5036 394	-5815 394
1063 275	77 274	-4253 275	-3962 275	446 275	1728 275	-1981 275	-563 275	-983 276	1229 275	-2893 275	545 275	4224 275	-3250 275	-5861 275
1459 -720	-3161 -722	408 -720	-1971 -720	858 -720	381 -720	458 -720	-2078 -720	2421 -721	-2571 -720	1589 -720	-4030 -720	262 -720	-5641 -720	-6597 -720 7/32
359 466	4088	1748 466	429 466	1655 -466	-740 -466	-2157 -466	-2812 -466	-926 -465	-3374 -466	1436 -466	4814	-790 -466	-6372 -466	-7441 -466 , Blatt 17
799 210	1820 209	4390	119 210	-3847 210	532 210	1250 210	-2074 210	211	-1067 210	-3003 210	-2536 210	4335	210	-7247 -7441 -6 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 17/32
1080 -626	-4144 -628	-2384 -626	134 -626	1185 -626	-3862 -626	-3915 -626	-2568 -626	-536 -627	.3463 -626	1205	-4899 -626	2402 -626	-6451 -626	-7307 -626
-3067	-1378 1146 104	1098 106	-1378 -3255 106	-1378 -3201 106	-1378 -1953 106	, 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-2197 -2197 -106	5.7- 301	- 	-2119 106 106	-2504 106 106	5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	.361 106 106	-2564 -6508 106 -1378
399		399	-707 -4413 399	.233 389 399	298 4 8 6	757- 688 389	3002	438 1526 398 398	3702 -1975 399	-1665 -3248 399	-3824 2995 399	399 45	355-	3753 399 -701
-2832 -381	-1115 -4393 -382	-191 2467 -381	-1115 -2731 -381	-115 -104 -381	-1115 -4112 -381	4165 -381	-1115 -381	-1115 -1112 -381	-1304 -3628 -381	-1115 1644 186-	-1115 -5048 -381	-381 -381	-381	-6930 -6930 -381 -1115
-3685 43	8 2 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 6 4 5 6 5 6	-3012 -4796 -43	-894 -4354 43	48 ⁴ 4162 43	48 45 45 45 45	8 2 2 2 3 3 4 3 5 4 3 5 4 3 5 3 5 3 5 3 5 3 5 3	-894 -2116 -43	-894 667 45	-749 2247 43	-3408 -3408 -43	-894 -1550 -43	4732 432 43	-2898 -2898 43	-894 -7394 43 -894
-1515 233	-5900 1466 234	-11503 -5412 233	-11527 -4991 233	-11527 -8 233	2213 2018 233	4037 749 233	-1775 -28 -233	- 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45	2298	-2618 -664 233	-10137 1267 233	-10224 -5359 -233	3750 3750 233	-11458 -7040 233 -11527
-57 -500	-10485 -4072 -501	-5208 -557 -500	-10485 -2770 -500	-10485 -2762 -500	-10485 -3792 -500	-10135 -3844 -500	-10197 -2815 -500	-9699 -1030 -500	-3381 -500	-7722 -1527 -500	-9095 -4561 -500	-9182 529 -500	-1045U -5784 -500	-10415 -4791 -500 -10485
727 -149	-25 -345 -150	-3098 -149	- 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	-1 518 -149	-352 -2321 -149	25. 25. 45. 45.	-500 -2222 -149	-2227 -690 -149	-2648 -1684 -149	-265 -498 -149	-24 4 -149	4 6 4 5	8 6 6 6	-2 -882 -149 -1
232	233	- 234 -	235	236	237	238	239	- 240 -	. 24.	242	243	. 244	245	246

342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	354	382	383	384
92 -249	-6845 -249	-4973 -249	-7548 -249	-2833 -249	-3164 -249	-3605 -249	141 -249	1837 -249	641 -249	-940 -251	-2319	1327 -249	897 -249	988 -249
3771 -294	-6649	-4988 -294	-7251 -294	-3176 -294	-3509 -294	-4286 -294	-3185 -294	-3254 -294	1322 -294	-296 -296	-2995 -288	-2977 -294	-2462 -294	796 -294
-5422 -369	-7468 -369	445 -369	-8427 -369	1651 -369	2448 -369	-3726 -369	-727 -369	1493 -369	-3714	-3696 -366	445 -372	-2372 -369	-1536 -369	-3683 -369
-6415	-6659 117	4979	-7475 117	1109	-3050	-866 117	-2826 117	-2908	-2558 117	-1329 116	-1299 113	-1357 117	-99 117	117
-6447 359	-6812 359	-6199 359	-7234 359	-1105 359	-903 359	-251 359	-1731 359	-3612 359	1631 359	-1133 360	-1244 355	-1317 359	-1807 359	756 359
96 6099-	4226 96	-6306 96	-7576 96	-3990 96	4268 96	351 96	-3896 96	4081 96	-740 96	-2346 96	242 89	98 98	-1874 96	-564 96
-748 45	-5393 45	-5839 45	-6709 45	-3812 45	-4079 45	-1802 45	-3677 45	-3900 45	-609 45	407-	1354 28	-622 45	-1416 45	382 45
-7055 394	-6902 394	-6557 394	-7106 394	4484 394	4697 394	362 394	4455 394	-988 394	1215 394	1013 396	1512 414	-111 394	-2915 394	1458 394
-5988 275	-6439 275	-6665 275	-6217 275	4078 275	-4299 275	1385 275	-3962 275	-4171 275	-601 275	262 274	-973 283	2745 275	1387 275	494 275
-4495 -720	33 -720	2141 -720	-8114 -720	-1919 -720	193 -720	-3193 -720	1252 -720	2830 -720	-3181 -720	8 -722	-1898 -736	-1878 -720	-1252 -720	-3150 -720 3/32
255 466	-7152 -466	1676 -466	-1940 -466	-1198 466	-2819 -466	-2035 -466	482	466	4108 466	-390 -468	-2816 -479	-2768 -466	-1967 -466	-2004 -3 -466 - Blatt 18/32
-7173 210	4419 210	-1344 210	* -7289 210	4186 210	4438	3070	4009	4281 210	-166 210	1718 209	-582 194	-666 210	-1527 210	-1802 210 Tabelle 4.
494 -626	-7674 -626	2609 -626	-8745 -626	* -752 -626	714 -626	4175	-2250 -626	2480 -626	-4163 -626	•	-2857 -637	242 -626	778	-4132 -626 -
-3668 106	-1378 -5618 106	-1378 -5853 106	-1378 -6618 106	-1378 154 106	-1378 -3615 106	-1378 195 106	-1378 4521 106	-1378 -3399 106	-1378 -2252 106	-1378 1678 108	-1378 -996 -100	1075 106	-158 -158 106	4123 -175 106 -2097
-7222 399	-701 -6618 399	-707 -699- 399	-701 -6589 399	-701 -4433 399	-701 -1281 399	-701 -1114 399	-70- 530 898	-701 -1479 399	-701 -72 399	-3597 398	-701 -2333 397	4972 -2386 399	-3296 2157 399	-85 1288 399 -384
3802 -381	-1115 -7409 -381	-1115 1609 -381	-1115 -7868 -381	-1115 961 -381	-1115 -2980 -381	-1115 -426 -381	-1115 73 -381	-1115 -582 -381	-1115 263 -381	-1115 584 -379	-6554 -3114 -375	-89 -3035 -381	-1115 -2115 -381	-1115 -4382 -381 -1115
-7597 43	-894 -6711 43	-894 -6907 43	-894 -5905 43	-894 4589 43	-894 -2004 43	-1930 -1930 -1930	20 8 20 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-894 -4683 43	89 65 84	-894 1023 43	-15 748 43	4062 -736 43	-894 -1660 43	-894 474 43 -894
-7433 233	-11527 -7597 233	-11527 -7488 233	-11527 4192 233	-11527 -5223 233	-11527 -5404 233	-11527 -1140 233	-11527 -4977 233	-11527 -5317 233	-11527 1261 233	-11527 -106 236	-572 2192 264	-9917 1429 233	-9917 -192 233	-10121 -56 233 -11492
	•	•	•	•	٠.	-	•							-9078 -4061 -500 -10450
														557 -149 -2
247	248	249	250	251	- 252 -	. 253	- 254 -	- 255	256	257	258	259	260	261

Tabelle 4, Blatt 18/32

385	386	387	388	389	330	391	392	393	394	395	396	397	398	410
-274 -249	595 -249	-3593	-3593 -249	2415 -249	892 -249	-386	-674 -249	-2826 -249	1098	-3470 -249	2108 -249	-180 -249	-2487 -255	-2250 -249
2822 -294	3926 -294	-4276 -294	-4275 -294	3346 -294	884 -294	4276 -294	-294 -294	-3168 -294	-4276 -294	4153 -294	-3084 -294	-2908 -294	-3166 -264	-2800 -294
-807 -369	403 -369	-1876 -369	-258 -369	-1132 -369	369	-1172 -369	-1728 -369	1488 -369	-3714	-3592 -369	628 -369	938 -369	-2597 -368	305 -369
-1281	-1339	548	-672 117	-2832 117	1259	246 117	-2558 117	-775 117	407	-577 117	1049	794	-98 114	735
-768 359	-838 359	-362 359	753 359	-1378 359	-2960 359	850 359	-1517 359	-61 359	-1030 359	334 359	-2704 359	443 359	-265 356	1458 359
1061 96	-3927 96	1 48 4 96	-2339 96	-3994 96	1152 96	-1132 96	397 96	-3981 96	167 96	69 80 80	-2817 96	-2598 96	93 93	-1496 96
-3162 45	1084 45	144 45	934 45	-1135 45	-2549 45	1806 45	-736 45	294 45	-319 45	821 45	-2399 45	-2174 45	-700 41	-980 45
-4293 394	-4456 394	114 394	-1007 394	-4487 394	-1033 394	39 45	-3686 394	-20 394	361 394	178 394	-3779 394	3575	393	-2734 394
-1257 275	-802 275	-744 275	205 275	-889 275	-1113 275	-380 275	745 275	-4069 275	2049 275	1664 275	-2778 275	829 275	-1136 277	-1402 275
439 -720	-1922 -720	-3182 -720	-3181 -720	283 -720	2307 -720	-431 -720	-3182 -720	2698 -720	-3182 -720	-3059 -720	-1859 -720	890 -720	-2069 -713	785 -720 3/32
-1069 -466	1050 -466	4109 466	4108 466	142 466	370 466	4 466 466	4 4 86 4	982	4108 466	-3986 -466	-329 -466	-326 -466	122 -467	-2432 -466 -
-1519 210	-4078 210	1899 210	417	-4194 210	55 210	313	1186 210	4176 210	1815 210	267 210	232 210	1235 210	794	-1043 210 Tabelle 4,
319 -626	1036 -626	-4165 -626	708 -626	752 -626	306	4164 -626	4165 -626	1337 -626	4164 -626	4042 -626	494-626	-115 -626	-3038	-366 -366 -626
-292 106	-1378 -3269 106	-1378 2926 106	-1378 436 106	-1378 -3300 106 106	13/8 106 106	1047	-1378 1673 106	-1378 -3299 106	-1378 975 106	-1378 -2129 106	-274 -80 106	538 538 54 55 55 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57	\$ 2 5 5	-51 -1339 106 -210
-1439 399	-701 -539 399	-701 -3594 399	-701 -1745 399	-701 4438 399	-701 -3985 -399	. 956 399 399	-701 -1956 399	-704 -428 399	-701 199 399	399	-2532 85 399	39 29 39 39 39 39 39 39 39 39 39 39 39 39 39	4142 -2498 395	4841 1340 399 -2882
2837 -381	-1115 -1028 -381	-1115 -4414 -381	-1115 -4413 -381	3037 3037 -381	-1115 -3218 -381	-1115 -4413 -381	-1115 -4414 -381	-1115 -2664 -381	-115 -414 -381	-1115 -4291 -381	-145 -171 -381	-115 -21 -38 -38	138 138 38	-475 -2635 -381 -1115
-3594 43	-894 -4453 43	-894 -1918 43	-894 1661 43	-894 4599 43	-894 -1492 43	949 943 43	48 1709 43	-894 -4578 -43	-894 -1918 43	-894 1296 43	679 45 67 84	-894 -2471 43	48 1325 44 44	-1835 -163 43 -894
1150 233	-11527 -1621 233	-11527 -707 -233	-11527 580 233	-11527 -5233 233	-11527 -1037 233	-11527 1289 233	-11527 1238 233	-11527 -5213 233	-11527 262 233	-3406 462 233	-2489 -1177 233	-2793 -1066 233	-1356 1132 231	-10165 1117 233 -10165
														436 -2494 -500 -9123
-1153 -149	-125 -149	-1 -233 -149	-149 -149	-1 -2891 -149	 -563 149	- 159 - 149	-1 1274 -149	-1 -149	-1- 85 -149	124 124 149	-284 -149 -149	-226 -149	54. 54.	-1944 -356 -149 -4
262	- 263 -	- 264 -	- 265 -	266	- 267 -	268	269	270 270	27.1	272	273	274	275	276

411	413	415	417	419	421	423	437
2375 -249 896 -249	-3413 -249 -2830 -249	2512 -249 -208 -249	1386 -249 -5886 -249	-6874 -249 1326 -249	1422 -249 -915 -249	-1999 -237 -3362	-249 -3302 -249
-3528 -294 -3886 -294	2039 -294 -3175 -294	990 -294 1341 -294	-3246 -294 -6934 -294	-7315 -294 2926 -294	4640 -294 -273 -294	-2374	-294 -3983 -294
-2980 -369 -3325 -369	-1765 -369 1285 -369	-1046 -369 1040 -369	2596 -369 -6301 -369	-7450 -369 2210 -369	-795 -369 -1726 -369	-1213	-369 -1623 -369
-1846 117 -2169 117	-2380 117 215 117	-2816 117 1924 117	-218 117 -4868 117	-6009 117 -1307 117	-2816 117 -841 117	1564 115 580	446 117
-1780 359 691 359	50 359 -364 359	-3498 359 -1828 359	-3602 359 4432 359	-5553 359 -3509 359	-532 359 175 359	1858 358 635	359 518 359
1325 96 570 96	-2163 96 692 96	-3958 -3955 96	-4072 96 -5293 96	-6414 96 -3981 96	-750 96 -2341 96	-1945 93 -1027	96 -2060 96
1163 45 426 45	-1615 45 -3728 45	-3771 45 -643 45	-3892 45 1419 45	-4906 45 -3804 45	-3772 45 1361 45	-1561 44 1765	-1511 -45
597 394 1981 394	1566 394 129 394	-774 394 4448 394	4560 394 -5218 394	-6088 394 -862 394	-1510 394 -3687 394	-2261 395 -3459	394 141 394
-1452 275 -1839 275	430 275 4006 275	-4042 275 -1446 275	4162 275 -3269 275	-1213 275 -1502 275	4043 275 -1104 275	1621 278 712	275 1208 275
-2456 -720 -2792 -720	-3001 -720 1507 -720	2103 -720 1757 -720	207 -720 -6095 -720	-7325 -720 1375 -720	-1913 -720 -3178 -720	-1160 -718 -166	-720 -2887 -720
.3364 .466 .3719 .466	-3927 -466 -466 -466	-1108 466 304 466	239 466 -2189 -466	-7778 -466 -274 -466	-298 -466 -758 -466	-1880 -468 -1941	-1911 -466
-1072 210 - 1641 210	326 210 4079 210	4136 210 4155 210	-1723 210 4391 210	-5596 210 -1866 210	4138 210 205 210	-1739 211 -1606	210 -1553 -1553 210
-3416 -626 -3775 -626	-3981 -626 -626 -626	-1048 -626 -626 -626	290 -626 -6860 -626	-8036 -626 -1435 -626	1399 -626 -1843 -626	1572 -627 -3928	-626 -3859 -626
1510 106 -1028 890 106	-1052 -2074 -2074 -3599 -3269 -106	-1378 185 106 -1378 -3270 106	-2008 -3390 -1378 -106	-5139 -5139 -1378 -1378 -101	-349 -349 -1378 -1378 -106	-1572 -1642 103 -2302 -2025	106 -169 -1969 -136
1869 399 -972 1118	-950 505 399 -124 -1166 399	-701 -701 -701 -701 -399	4516 399 399 3180 399	.5502 .399 .701 .425 .399	399 1367 1367	-/01 1184 402 -327 1819	399 -3177 1065 399 -3476
3865 381 -1115 4024 -381	-1111 -381 -1115 -1115 -381 -381	-1115 3229 -381 -1115 -109 -381	-1115 -381 -381 -1115 -6920 -381	-1115 -7732 -381 -1115 -167 -381	-381 -1115 -4408 -381	-2006 -383 -136 -136	-381 -1115 -4111 -381 -1115
-1142 43 430 430	-894 1575 43 -1322 43	-894 -907 -894 -4560 -4560	-894 -4574 -894 -1335 -43	3932 3932 43 43 43	4530 430 -714 -714	-894 -1892 -3476 -225	43 -894 -152 -43 -894
233 233 -10389 369 233	233 233 -11318 -1863 233	-11527 -348 -348 233 -5610 -5196 -533	-11498 -5308 233 -11527 158 233	-3549 -3549 -334 -11527 -5221 -523	-11527 -11527 -11527 -11527 -11527	-217 -2291 235 -8690 1096	233 4136 1830 233 269
-3358 -500 -9346 -3703 -500	-3912 -3912 -500 -10276 -500 -500	-10485 -2711 -500 -10485 1323 -500	-10455 -2779 -500 -10485 -6618 -500	-10485 -7026 -500 -10485 -2704 -500	-2711 -2711 -500 -10485 -4088 -500	-10465 -1200 -503 -1741 -3859	-500 -10220 -3794 -500 -10136
		-781 -781 -149 -561 -169			•		·
277	279	281	283	285	287	88	29

Tabelle 4, Blatt 20/32

440	441	444 444 444	445	446	44 8 449	450	452	
-3427 -250 -1683 -249	-642 -249 -3456 -249	960 -249 43 -249	-288 -249	1040 -249 2051 -249	-341 -249 3212 -249	-350 -249 852 -249	2241 -249 1213 -249	
-3694 -295 -2155 -294	4237 -294 4139 -294	2653 -294 -3087 -294	981 -294	2048 -294 952 -294	-294 -294 -294	4197 -294 4245 -294	1628 -294 -3759 -294	
-2280 -370 -1268 -369	-940 -369 -3578 -369	512 -369 1089 -369	-3520 -369	1072 -369 548 -369	-1324 -369 -3650 -369	350 -369 -1729 -369	148 -369 -1139 -369	
-1095 117 1741	645 117 -12 117	-266 117 -86 117	-2365 117	187 117 -2659 117	1081 117 439 117	1437 117 -1304 117	133 117 350 117	
888 359 773 359	105 359 575 359	-2681 359 416 359	21 359	359 359 359	-19 · 359 -203 359	-2535 359 359 556 359	2518 359 458 359	,
-2723 95 2059 96	-2311 96 -561	25 96 -3195	2246 96	-554 96 -2813 96	304 96 -1170 96	104 96 -765 96	962 96 -2757	
-2326 46 -730	238 45 -604 45	-2278 45 593 45	819 45	-867 45 45 45	. 1139 45 462 45	486 45 -1811 45	.328 45 629 45	•
1729 393 -2267 394	-1394 394 557 394	610 394 394	-689 394	603 394 -137 394	-766 394 76 394	728 394 -3697 394	-136 -900 -394	1
-1940 277 -1123	719 275 -3 275	-2673 275 -3189 275	1038 275	-3006 275 -727 275	-505 275 191 275	906 275 1134 275	691 275 942 275	j
-2570 -721 -976 -976	-531 -720 -3045 -720	-2058 -720 538 -720	-2987 -720	-2218 -720 -293 -720	452 -720 -3121 -720	-3086 -720 -3145 -720	-3128 -720 1993 -720	1/32
-3468 -467 -473 -456	-1498 -466 -1001 -466	448 466 668 466	-570 -466	263 -466 294 -466	-1404 466 4045 468	-905 -466 -1741 -466	-1244 -466 -867 -466	Tabelle 4, Blatt 21/32
-2594 210 -753	-1805 210 -957 210	-2390 210 149 210	892 210	210 210 210 210	282 210 210 -116 210	-1888 210 -1024 210	210 210 39 -39	
-3255 -627 -1496 -626	4115 -626 -4027 -626	-325 -626 341 -626	-1582 -626 •	-1186 -626 -1214 -626	-1463 -626 -1235 -626	-318 -626 -649 -626	-1689 -626 -3109 -526	
. 2484 112 -129 -1003	• • •					• •	-1378 -350 -350 -1378 -1555 165	•
678 401 -3546 -2091	-68 1750 399 -375 227 227 399	-1827 -1167 399 -2297 -3954 399	-1942 -1463 -399 -506	1085 1085 399 -267 237 399	-701 -1917 399 -701 -1064 399	3624 3624 399 1769 399	399 399 701 719	5-
-3503 -381 -5171 -1899	-1115 -4367 -381 -1115 -4277 -381	-1115 -2916 -381 -1115 -880 -381	4219 -381 -381	-504 -504 -381 -1115 -3429 -381	-1115 -381 -1115 -1188 -381	4353 4353 4353 4353 4353	-745 -381 -1115 -1283 -381	-1115
	223 + 40 + 40 + 40 + 40 + 40 + 40 + 40 + 4							
-2763 232 -8628 -1527	-9122 -9122 1864 233 -3225 702 233	-2940 1048 233 -11199 -172 233	-11246 -149 233	-11303 -928 -928 -11457 -11457 -1832 233	-11527 594 233 -4636 173 233	233 233 -11527 -281 233	233 233 241527 23012 233	-11527
-1342 -500 -236 -1631	-8080 -8080 -10448 -3956 -500	-10326 -2883 -500 -10157 1079 -500	-10204 -3898 -500 -500	-10260 -3038 -500 -10415 -3356 -500	-10485 -500 -10485 -4031 -500	-10426 -3984 -500 -10485 1309 -500	-10485 -4032 -500 -10485 -3415	-10485
2610 -149 -2750 136	-1186 -1186 -149 -164 272 272 -149	-203 611 -149 -2 801 -149	-149 -149	-1397 -149 -149 -1177	-1114 -149 -60 -833 -149	433 -149 -1 328 -149	-1216 -1216 -149 -136 -136	<u>}</u> •.
292 293	. 294 . 295 	296 296 - 297	298	299	302	. 304 303 .	308	

454	455	456	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469
-3593 -249	1529 -249	-3531 -245	1234 -249	-2347 -249	-75 -249	-3663 -249	672 -249	1241 -249	1960 -249	1040 -249	588 -249	-1068 -249	493 -249	1406 -249
-4275 -294	2000 -294	-4212 -295	-3006 -294	-2692 -294	-3096 -294	-4350 -294	1010 -294	-4254 -284	-3603 -294	833 -294	-4266 -294	-4172 -294	-3732 -294	-4273 -294
-3714 -369	1357 -369	-601 -368	-154 -369	1211 -369	-2072 -369	-3789 -369	1077 -369	-976 -369	-2691 -369	-1647 -369	-3697 -369	662 -369	-2869 -369	-1544 -369
267 117	-356 117	1338 119	69	282	249	63	-2845	286	9- 11-	-780 117	438	727	-2655 117	117
939 359	460 359	294 360	916 359	-1354 359	-537 359	712 359	-3535 359	536 359	-1197 359	-279 359	-215 359	-9 359	-1167 359	-102 359
-1015 96	-3979 96	-2280 95	-392 96	851 96	-3551 96	96 96	4005	553 96	-1349 96	548 96	384 96	-758 96	341 96	1097
664 45	-3801 45	1352 48	-2126 45	-3272 45	-3268 45	456 45	-3826 45	427	-2491 45	863 45	269 45	158 45	232 45	1891 45
-1408 394	4474 394	1056 393	-3585 394	-3982 394	-1479 394	-3743 394	4499 394	1822 394	4036 394	-3981 394	-136 394	-3725 394	-3947 394	-883 394
760 275	1098 275	1235 277	-622 275	-641 275	142 275	1531 275	-851 275	-2242 275	441 275	951 275	-2234 275	-396 275	-1146 275	732 275
-3181 -720	251 -720	157 -721	2904 -720	1518 -720	2046 -720	-3258 -720	-1932 -720	-3155 -720	93 -720	526 -720	-19 -720	-3056 -720	-542 -720	-237 -720
-2123 -466	1118 -466	-2296 -467	-1373 -466	1102 466	532 -466	4183 466	şè. 98	-162 466	1342 466	-870 -466	-1227 -466	-125 -466	1197 -466	-2211 -466
-1832 210	4178	-611 209	-795 210	-3631 210	-357 210	-1905 210	4204	397	-2594 210	-41 230	141 210	885 210	-574 210	400 210 Tabella 4
-1864 -626	-1012 -626	-1403 -627	-322 -626	1221 -626	40 626 •	4239 -626	-537 -626	-985 -626	-2850 -626	-1378 -626	-1835 -626	1134 -626	1285 -626	-1261 -626 T
106	-1378 -3295 106	-1378 -2192 105	-2567 638 106	-189 -2798 106	-1323 -3000 -106	-2314 106	-3303 106	503 106 106 575	2505 106 106	1857 106	-1376 -2256 106	-246 -246 106	603 106 275	1186 106 -1378
399	£ 4 8 5	388	339	399 399 241	399	399	389	24- 268 298 298	5 8 8 8	3 8 8 5	388	3634 399	399	2 2 3 3 4 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5
-381	-381 -381	4348	255 4 62 5 4 62 5 5 7	-2191 -381 -381	3055 -381	381	3645	. 355 256 256 256 256 256 256 256 256 256 2	185	381	-381 -381 -41	573 -381 -444	-184 -384 -484 -484 -484 -484 -484 -484 -4	-381 -381 -115
1573	4581 43 43	874 42	45 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	4015	-3810 -43 -864	1181	468 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	\$ 8 4 2	-2730 -2730 -2730 -2730	-2584 -2584 -2584	, 4 & 8	986.49	-2498 -2498	4 4 4
1457	-11527 -5217 233	2 2 2 5	-1503 -2963 -233	-10936 -4645 233	-1036 -613 233 -1363	2491 233 233	-148 -148 233	233 233	1186 133 233	-132/ -3142 -233 -4531	1226 233 233 155 155	165 165 233 4557	529 233 233 529	233 233 -11527
-4092	-10485 -2705 -500	-10483 -4028 -501	-2403 -2610 -500	-2235	-9944 -2651 -500	-4167 -500 -500	-2730 -500 -500	-4063 -500 -500	-3224 -500 -500	-3318 -500 -500	- 4079 - 500 - 500	-3951 -500 -500	55. 56. 56. 56.	4088 -500 -10485
819 -149	- 25 - 1	12 4 5	-1126 -734 -149	-694 -149	-1055 -149	467 -149	-1259 -149	-1- -2622 -149	-2746 -149	-203	-149 -149	-149 -149	346	4 4 4 .
307	308	. gg ,	330	. 31	312	313	314	315 -	316	317	318	319 -	320	324

470	471	472	473	474	476	477	478	479	480	481	482	483	48	485
-3593 -249	-283 -249	-1010 -249	-2781 -249	-4269 -250	-2402 -249	-1940 -249	743	12 -249	1369 -249	-591 -249	-3189 -249	1210 -249	-3093 -249	1482 -249
-4276 -294	-3195 -294	-4205 -294	-3452 -294	-4706 -295	-3084 -294	-2366 -294	3483 -294	-3891 -294	773	4005 -294	-3872 -294	2776 -294	-3776 -284	-2222
-1228 -369	1440 -369	509 -369	322 -369	-3536 -370	-2520 -369	1115 -369	-585 -369	-626 -369	-1063 -369	.369	-3311 -369	-1017 -369	-3214 -369	-1755 -369
-202 117	400	-1331	117	-2222 117	-1370	-1570 117	155	-935 117	-51 117	446 117	857 117	-2075 117	969	-720 117
534 359	359	1242 359	518 359	-1961 359	218 359	-1881 359	458 359	425 359	-296 359	14 359	1184 359	359 359	1133 359	-685 359
-205 96	-3855 96	213 96	1381 96	-3520 95	692 96	383 96	-1954 96	751 96	-2483 96	-2091 96	-283 96	471 96	658 96	-9. 98
-720 45	-1121 45	478 45	791 45	-2685 45	1034 45	-1491 45	709 45	1918 45	-2003 45	-1544 45	-206 45	2031 45	752 45	2049
546 394	129 394	-3713 394	-2902 394	3218 393	-2498 394	-2961 394	-3066 394	-3324 394	-3613 394	-3434 394	1787 394	-988 394	-3187 394	-1798 394
1550 275	-363 275	-2274 275	55 275	2243 277	2083 275	675 275	-1885 275	832 275	-883 275	1912 275	781 275	-1944 275	947 275	2085 275
-3181 -720	-1944 -720	-3095 -720	-2352 -720	-3836 -714	-1989 -720	1506 -720	-1509 -720	-231 -720	921 -720	-2908 -720	-2778 -720	-2247 -720	613 -720	-1233 -720 3/32
4108	275 -466	-562 466	-1378 -466	4654 466	-2914 -466	-1854 -466	44 466	-1033 -466	672 466	-3829	456 466	-3052 -466	-823 -466	-2097 -1 -466 - Blatt 23/32
1050	-3946 210	57 210	-168 210	* -3135 210	-646 210	1866 210	-142 210	745 210	-803 210	1051 210	469 210	-1580 210	159 210	1349 210 Tabelle 4.
4164	-70 -626	- -1596 -626	532 -626	* -4556 -627	-2967 -626	-1567 -626	-51 -626	146 -626	-389 -626	-814 -626	-3760 -626	623 -626	-3664 -626	-2144 -626
4 5	-1378 -3231 106	-1378 605 106	-1378 -1470 106	-64 -2893 105	-576 -1064 106	-86 -1625 106	-268 -1712 106	-1079 -1891 106	-243 775 106	-537 412 106	-154 -1848 106	-107 -1891 106	-157 -1752 106	9 5 5 4
575 399	-701 -1982 399	-707 - 58 399	-701 794 399	4529 1586 398	-1602 1017 399	-4118 -2890 399	-2560 -1027 399	-925 -1338 399	-2687 1948 399	-1687 1049 399	-336 -257 399	-3810 -582 399	-3279 -343 399	4043 -1691 399 -4530
4414 -381	-115 1303 -385 -385	-1115 2076 -381	-1115 -3561 -381	-1115 -4644 -372	4787 456 -381	-1115 2376 -381	-1115 2146 -381	-1115 -920 -381	-1115 -3010 -381	-1115 -624 -381	455 381 381	-1115 985 -381	-1115 -3913 -381	-1115 -2376 -381 -1115
. 64 643	-894 -1789 43	45 45 54 54	-894 -144 -43	-894 -2154 43	-53 1025 43	-894 -1796 43	287 43 43	-245 -245 43	-965 -965 43	-10 -10 43	26 26 4 8 8 8	88 43 88 84	-894 -676 43	89 43 43 43 43
449 233	-11527 -4902 233	-11527 572 233	-1042 916 233	-763 -1835 232	.98 23 23 23	-10033 -2372 233	-10099 -415 233	-10413 -92 233	-5194 488 233	-11103 367 233	-3115 592 233	-3296 -173 233	-10898 1872 233	-273 -552 233 -1408
-4092 -500	-10485 -2743 -500	-10485 -3995 -500	-10485 -3258 -500	-9527 -2600 -500	-1305 -500 -500	-8991 -1974 -500	-9057 -2342 -500	-9370 -3702 -500	-10054 -2946 -500	-10061 -3817 -500	-10186 -3689 -500	-10010 451 -500	-9856 -3592 -500	-9895 -2121 -500 -7361
		•												-2547 -796 -149 -697
322	323	324	325	326	327	328	329	330	. 33.	332	333	. 83.	335	336

Tabelle 4, Blatt 23/32

486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	200
1779	-2045 -249	-1861 -249	-2707 -249	1229 -249	58 -249	733	1177 -249	-3593 -249	338 -249	585 -249	-3539 -249	379 -249	546 -249	661 -249
-1722 -294	-2498 -294	-2518 -294	1250 -294	-294 -294	415 -294	984 -294	-4186 -294	-4275 -294	2641 -294	990 -294	4222 -294	-294 -294	4091 -294	-3791
-944 -369	-631 -369	-1917 -369	456 -369	-1811 -369	-3714 -369	-260 -369	.369 -369	-2008	.369 -369	-343 -369	-3661 -369	-3661 -369	802 -369	-531 -369
-399	-1076 117	1925 117	-784 117	117	189	-1133	163	905	-293	587 117	642	-557 117	643	-932 117
1020 359	2830 359	-823 359	-988 359	313 359	-1018 359	-1988 359	-102 359	509 359	97 359	-1209 359	631 359	359	-1029 359	-1306 359
-515 96	-2230 96	98 96	15 96	1455 96	137 96	-3978 96	-921 96	-2339 96	504 96	-1274 96	-1067 96	-321 96	-182 96	-57 96
გ. ჯ	-2008 45	1344 45	-3673 45	250 45	1529 45	-1394 45	-798 45	1065 45	-1143 45	-3799 45	791 45	489 45	125 45	2001 45
-1603 394	-2390 394	-1988 394	-1379 394	-1426 394	-3686 394	-1693 394	-3720 394	-3686 394	-949 394	-1693 394	108 394	-3633 394	-3974 394	-3911 394
1518 275	-1892 275	-531 275	-659 275	775 275	766 275	4067 275	1176 275	1669 275	279 275	4067 275	1250 275	55 275	-1323 275	-572 275
-619 -720	-1167 -720	-1422 -720	3415 -720	-3164 -720	-3181 -720	336 -720	14 -720	-3181 -720	2818 -720	1591 -720	871 -720	-3128 -720	1421 -720	533 -720
-1405 -466	-1614 -466	-2315 -466	926 -466	-759 -466	-942 -466	2065 466	-1722 -466	-2362 -466	-219 -466	616 -466	-1981 -466	-371 -466	688 456	327 -466 , Blatt 24
-83 210	-2146 210	861 210	4045 210	1359 210	866 210	-1972 210	1865 210	194 210	-123 210	-1135 210	-306 210	210	-1221 210	-308 327 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 24/32
-1234 -626	1819 -626	-2325 -626	-215 -626	64 -626	4164 -626	630 626	-3951 -626	-1477 -626	115 -626	1948 -626	-1236 -626	-1212 -626	-786 -626	245 -626 -
-332 106	-73 -1987 106	-15 -58 -58 -58 -58	-3175 -3175 106	-3103 -2258 -106 -1378	591 106 128	3294 106 1378	-1378 -2293 106	4 901	- 323 - 323 - 485 - 485	-1376 -3294 106	97.	1623 168 168 168 168 168 168 168 168 168 168	2612 106	-1378 -2532 106 -1378
-1399 399	4345 -1837 399	.3330 -1871 399	-177 -1761 399	267 399 277	399	399	3628	399	-121- 389 54	399	399	399	399 57	-707 615 399 -701
-1517 -381	-1115 -1917 -381	-1115 -2602 -381	-124	-1115 -4384 -381	4413	-1897 -381 -444	-1332 -381 -384 -444	-4413 -381 -381	-142	-1-1- 495 -381	-4360 -381	4360	272	-57 -57 -381 -1115
-133 43	-894 -2345 43	228 45 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54	4443 43 43	-894 -1928 -43	555	4579	-1986 -43	25 25 25 25 25 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26	-3609 -43 -43	4578 4578 458 458 458 458 458 458 458 458 458 45	58 64 58	435 435 435 435 435 435 435 435 435 435	45. 45. 45. 45.	84 43 43 43
-578 233	-8039 -2517 233	-838 -639 -233	-9072 -5077 233	-11399 -1127 233 11527	1793 233 233	- 228 - 228 - 233 - 233 - 233	233 233 233	1011 233 1457	4193 233 233	-52113 -5213 -233 -233	1017 233 24456	1347	-141 -233	-2964 -2964 233 -11527
-1241 -500	.6997 -1193 -500	.7341 2366 500è	-2592 -500	-10357 -4072 -500	-4092 -500 -500	521 520 500 500	3970 -3970 -500	-4092 -500 -500	-10463 -2875 -500	-2705 -500 -500	-4039 -500 -500	4039	-3331 -500 -500	-10485 -3456 -500 -10485
997	-17 -813 -149	-13 -927 -149	-8 1374 -149	-2 669 -149	- 8 4 .	-2877 -149	-1114 -149	- 152 - 149 -	-218 -149	- F 64 - E	. 48 45 49 49	-1398 -149	-2724 -149	623 -149 -1
337	338	339	340	· ¥ ·	342	. 343	344	345	346	347	348	349	350	351

501	205	503	504	505	202	206	510	511	512	513	514	515	516	517
879 -249	789 -249	2373	-654 -249	918	-2585 -250	-3113 -249	949 -249	-879 -249	-3475 -249	-2821 -249	-2881 -249	1759 -249	-3993 -249	-3585 -249
258 -294	1504 -294	139	353 -294	-4189 -295	-3264	-3794 -294	1301 -294	3343 -294	4086 -294	-3163 -294	2337 -294	2012 -294	2295 -294	4260 -294
-3709 -369	-783 -369	-420 -369	-1328 -369	-3628 -370	1299 -370	837 -369	-1379 -369	259 -369	-1175 -369	2404	1278 -369	999	2430 -369	-1474 -369
341	-337	-226 117	360	-2472 120	1125	153	-291 117	-349	-297 117	358	2587 117	-6467 117	-3937 117	-1084
1019 359	426 359	-214 359	1170 359	633 359	-1502 359	-915 359	-647 359	409 359	539 359	-985 359	463 359	-6411 359	4820 359	-1034 359
-1267 96	552 96	-391 96	-573 96	-2253 95	362 96	-164 96	ည် ဇွ	940	-721 96	-1508 96	-4031 96	-6595 96	-5204 96	96 96
-39 45	-71 45	-3674 45	-213 45	-668 51	698 45	704 45	932 45	-635 45	1155 45	-3797 45	-3850 45	-729 45	4940 45	-1810 45
-3687 394	-3694 394	1019 394	2162 394	-795 395	-210 393	799 394	-3388 394	-3689 394	-3762 394	4473 394	4523 394	-7055 394	-5603 394	-3698 394
-11 275	60 275	-3959 275	151 275	1912 276	-1232 278	1357 275	-729 275	1163 275	1147 275	508 275	1891 275	-5931 275	-5350 275	-230 275
690 -720	1388 -720	1708 -720	1182 -720	-3095 -721	-2168 -721	-2699 -720	-2788 -720	-3172 -720	1615 -720	480	-1957 -720	-4871 -720	186 -720	-3161 -720 5/32
-991 -466	-549 -466	449 466	4087	-633	-3090 -466	-3624 -466	.939 .466	-1007 -466	256 -466	-12 -466	8 8	426	1541 466	.4079 -3 .466 -
319 210	188 210	-886 210	-667 210	-92 211	-838 210	895 210	210	1670 210	-1980 210	-4171 210	210	-7161 210	-5425 210	-1852 210 Tabelle 4,
4157	4109 -626	-627 -626	4142 -626	4077	-3138 -627	-1392 -626	-1477 -626	-1474 -626	-3729 -626	500 -626	366	-5428 -626	1828 -626	-1160 -626 *
	•	-			-1768 -1254 105									
748 399	-701 438 399	-701 -465 399	-701 -438 399	-1234 15 398	-502 -16 398	-1155 -14 399	-1613 199 399	-79 -3596 399	-701 -3672 399	. 39 5. 13 85.	24. 289	-707- -7189 399	-5697 -5697 -399	-701 1163 399 -701
1032 -381	-1115 231 -381	-1115 -578 -381	-1115 -4392 -381	-1115 -4327 -382	-5935 -3392 -381	4624 -88 -381	-1115 1375 -381	-1115 -4399 -381	-1115 -4049 -381	1133 1433 384	-1115 -2714 -381	3911 3811 -381	-1115 -175 -381	-1115 -4376 -381 -1115
301 43	-894 -302 43	-894 -1583 43	8 8 8 8 8	-894 874 42	-24 959 43	9- 143 43	-894 43 43 43	284 44. 84.	-894 -2073 43	-894 -4573 43	-894 -4619 43	-894 -7594 43	-894 -5783 -43	-894 1540 43 -894
233	-11527 421 233	-11527 -4984 233	-5900 789 233	4264 1385 232	-739 193 235	-10292 1115 233	-10964 947 233	-1154 -17 233	-11527 -284 233	-11527 -5208 233	-11527 -5249 233	-11527 -7397 233	-11527 -6389 233	-11527 2819 233 -11527
4088 -500	-10485 -4061 -500	-10485 1409 -500	-10485 -4071 -500	-10461 -406 -501	-2237 -3077 -500	-2486 -3609 -500	9922 984 500	-10112 -4082 -500	-10485 -3835 -500	-10485 -2706 -500	-10485 -2751 -500	-10485 -5749 -500	-10485 -3732 -500	-10485 728 -500 -10485
														-1199 -149 -149
352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	. 383	364	365	366

518		520	521	522	523	524	526	527	528	530	531	532	533	534
-6952 -249 -4466	-249	-6716 -249	-3212 -249	550 -249	-118 -249	-2414 -250	-2269 -249	-3183 -249	1259 -250	-2616 -249	-2791 -249	-249 -249	-3542 -249	395 -249
-7031 -294 437	-294	-7358 -294	-3694 -294	-4245 -294	-294	-3024 -295	-2927 -294	-3527 -294	-2101 -295	-3321 -294	-3135 -294	4111 -294	850 -294	-3403 -294
-1177	-369	-7322 -369	-1128 -369	-849 -369	-3678 -369	-2290	-2389 -369	-2316 -369	-1193 -370	-2757 -369	1385 -369	-107 -369	394 -369	738 -369
-990 117	117	-5830 117	2484	-2528 117	105	-1457 117	1816	-1555 117	-1618 116	-1585 117	-2783 117	468	2083	-966 117
1494 359 8455	359	-5333 359	-637 359	359	-1709 359	403 359	-1230 359	894 359	-2012 358	81 359	880 359	83 359	1753 359	-150 359
-6340 96 -7738	8	-6337 96	888 96	-623 96	3785 96	-1448 96	-881 96	-2885 96	-2731 97	-1397 96	-3925 96	-93 <i>7</i> 96	-679 96	2132 96
-6045 45 -7853	45	-4617 45	2033 45	1762 45	-3489 45	-871 45	1644 45	-2491 45	-2498 48	921 45	-3738 45	127 45	1020 45	431
-5207 394 -7602	394	-5899 394	-1231 394	1627 394	529 394	-2584 394	-2306 394	1262 394	-3110 393	134 394	384 384	-1549 394	-987 394	4202 394
3991 275 -7788	275	4028 275	1570 275	830 275	-3864 275	2254 275	-755 275	-2340 275	-2625 274	1334 275	-897 275	-855 275	-613 275	-3271 275
-5938 -720	-720	-7175 -720	2315 -720	1177 -720	265 -720	-1898 -721	-1901 -720	-2360 -720	-970 -721	-2238 -720	89 -720	473 -720	-3082 -720	-333 -720
-6893 -466 -7682	466	-7635 -466	-1922 -466	4078	4210 466	-2739 -466	-2756 -466	-3150 -466	2090 -467	-3152 -466	-791 -466	1303 -466	-3974 -466	495 -466 Blatt 26/32
-6593 210 *	210	-5377 210	-2438 210	-171 210	-3223 210	-960 210	450 210	-2712 210	-2796 214	-871 210	4103 210	-709 210	-1891 210	-3061 210 Tabelle 4.
-6617 -626 -8380	-626	-7880 -626	-941 -626 •	4133 -626	-3967 -626	1213 -626	-2796 -626	-2887 -626	-1290 -627	-3212 -626	1288 -626	464 -626	-874 -626	475 -626
-6004 106 -1378 5446	106	4876 106 -1378	-2610 106 -1378	-2221 106 106 -675	-3670 106	-1288 -1283 -1283	3698 106	-2607 106	-2112 105 212	-1240 106 4118	-3251 106 -2148	422 106 1378	-2289 106	1018 106 1378
4397 399 -701	399	-5309 399 -701	399	533 399 -1420	399	1681 105	-2109 339 339 341	399	1636 401	1305 399 -86	329 389 389	.236 399 -701	399	4134 1399 1701
-6811 -381 -1115 -4914	-381 -1115	-7691 -381 -1115	-3404 -381	4383 -381 -1115	4379 -381 -1115	-2969 -381	36.	1387	-1549 -382 -5780	-381 -115	2346 -381 -1115	-381 -381	381	.381 -1115
-6472 43 -894 -8359	48 43	-1139 43 -894	-2562 43 -894	735 43 49	4041 43	4 th	25 th 25 th	-2842 -43 -43	808- 44 %	1010 43 43	4494 43 494	-775 43 -894	26 4 §	42 43 8 43 48
-6117 233 -11527 -8010	233 -11527	4171 233 -11527	-3119 233 -5377	233 233 239 239 239	4623 233 551	-1301 233 841	23 684	233	.3510 232 573	1871 233 -9977	397 233 -11489	462 233 -11527	-1125 233 -1157	-514 233 -11527
-4145 -500 -10485 -7039	-500 -10485	-7209 -500 -10485	-3336 -500 -10485	4062 -500 -10450	-3709 -500 -10326	-585 -500 -568	-2757	-1810 -500 -500	96. 100. 100. 100. 100. 100. 100. 100. 10	-3139 -500 -8935	-2678 -500 -10447	-3868 -500 -10485	-3979 -500 -500	658 -500 -10485
-3525 -149 -1 -8351	-149	-5713 -149 -1	-2724 -149 -36	- 192 - 155 - 155	-1141 -149 -1658	82 -149	-1367 -149	1394 -149	.150 -150	-226 -149 4	-809 -149 -2	562 -149	-743 -149	-962 -149 -1
367		389	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381

Tabelle 4, Blatt 26/32

535	22	25	,	200		538		Š	956		540			541		1	542			268			570			571		1	2/6		573			574			575			
-815 -249	19	-249	į) -) -	647-	-3531	-249		-3532	647-	-2806	-249		-2662	-249	;	-1539	-243		-3620	-220		1075	-249		3302	-248	į	-2324	647-	-2088	-249	! I	-2361	-249		-3297	-249		
377 -294	2030	3597 -294	;	22.5			-294		4214		-3488	-294		-3420	-294		-2198	-269		-3808	-295		-2674	-294		2248	-294		-2971	467-	2205	294	2	2000	-294		-3968	-294		
-2291 -369	700	-369 -369		-1720	-369	-611	-369		-1484 -1484	60°-	-2925	-369		-2848	-369		-1600	-375		-2263	-370		396	-369		-2449	-369		-2443	995-	1849	98	?	-2478	-369		-3385	-369		
1630 -		. 2599 117		•	111	229	117		-2497	117	55	117		-1645	117		1175	119		-1074	117		-1017	117		-3036	117		-1317	117	1321	117	=	-1330	117		-2286	117		
-3281 359	;	755 359	}	-911 -	328	8	329		529	328	1233	359	}	-1496	359		492	364		1540	359		-974	359		-3353	359		-1268	328	1382	2001-	200	-1272	359	}	821	359		
-3539 96		-2512 96	3	6	တ္တ	-1142	96		1503	9	777	9	}	-1539	96		-350	8		-3042	55	;	373	96	}	-3598	ဓ		2615	9	0	200	D n	1114	8	3	1116		1	
17		-531	}	-1802	42	34	45	!	1007	45	900	- - 58	}	1497	45		202	51		-2759	45	2	-277	45	?	-3165	45		1215	45	Č	C S	0	1191	45	}	402	45	:	
4307	}	-3791	t B	905	394	45.52	394	3	1382	394	7007	5 8	5	-2559	394		560	393) }	22284	ğ	3	.2156	304		4225	394		-2432	394		1757-			307	5		394		
762	3	-246	6/2	167	275	4730	17.59 27.5	4	312	275	9	049 776	C17	673	275	i	2719	270	i	9700	5 6	;	.719	27.6	617	186	275	i		275			275		275			275		
1430	3.	-2881	97/-	725	-720	2	8115- 8175-	03/-	-3120	-720		-2393	97-	-236R	720	3	-1100	7.75	2	2746	72.10	17/-		2 6			720			-720		-1500			100			126		22//32
223	B	-3711	48	-1746	-466	Š	1991-	ğ	4047	466		-1031	6	ď	9 9	}	1000	1999	ř	0	86C?-	ğ		C147-			200		•	-466		-2303		202	7/07-	9		7/9	-	Tabelle 4, Blatt 27/32
-3421	۲۶ کار	-705	210	785	210	• (739	217	2967	210	•	-107	210	ָ נ	-205 -205 -2105	2 *	4436	0.5	£07		7.5				200			217		210			210		1991			1798		Tabelle
-2390	\$ \$29-	-1076			-626		-1612			-626		-3373			8085-			CL02-			3308			-2487			-2480			-626			979-		900 200			•	• • • • • • • • • • • • • • • • • • •	_
		-2380	198	2250	106	-1378	-117	106	100	106	451	-1467	8	\$	-1205	<u>5</u> :	₹ ;	-243	3 i	-/4	-2789	50	-248	-726	92	42	-1573	2 5	ָבָּאָלָ פַּאָלָ	100	45	-1087	106	145	1023	<u> </u>	-1694	<u>ج</u> ج	106	•
		2389																																						
		-1115																																						
8	43	-2134 -2134	43	\$ \$ \$	ģ 4	-894	-1002	43	-894 2	43 ¢2	-894	-1134	54	-894	911	43	-894	972	4	-3521	-3163	45	7	1046	43	-894	4013	4	200	-00-	-894	1183	. 4	768-	5 72	.4	8	3 -166	4	♣
-4241	233	-1152/ -986	233	-11527	1550 233	4386	2080	233	-11457	-/40/-	-1133	1598	233	-847	2685	233	-1126	-435	23	-2354	-3035	232	-8518	292	233	-9503	1818	233	-950		9756	149	23	5 -975	7 46	233	5 -997	3 28	0 23	2 -1120
2114	9	-10485 - -3754 -	200	-10485	-4070	-10485	4029	-500	-10415	4031	-10415	-3304	-500	-9537	-3241	-200	-8368	-1975	-505	-632	-1244	-500	-257	-2471	95-	3 -8461	3 -283(-500	846	-2812	ביבים ביבים	260		5 -871	2 -285	-20	4 -893	5 -377	9 -50	2 -1016
		. &																																						
382	,	, e	3.		384		385			386	•	387	3.	•	388	•	•	389	•	,	390	,	•	394		•	392	•	•	တ် က	•	, è	ָה ק	•	8		•	ğ	•	٠

576	211	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590
1959 -249	-3503	-2908	-681 -249	2319 -249	-2900 -249	1656 -249	-503 -249	-2822 -249	-2918 -249	578 -249	-3592 -249	2967 -249	-6754 -249	877 -249
-3543 -294	4184 -294	-3287 -294	-3175 -294	1884 -294	-3267 -294	890 -294	870 -294	-3164 -294	-3266 -294	2168 -294	-234 -294	-2264 -294	-6951 -294	647 -294
986 -369	-3619 -369	-2284	-566 -369	-314 -369	1282 -369	505 -369	-558 -369	-1289 -369	-2226 -369	-857 -369	-1727 -369	-1344 -369	-1415 -369	1067 -369
-116 117	495	-758 117	-2818 117	-794 117	257 117	-2851 117	653	-2821 117	2532 117	-2817 117	-287 117	-1418 117	404 117	2168
-750 359	-1394 359	-795 359	3496	928 329	-142 359	-1749 359	-762 359	-3512 359	860 359	1072 359	-663 359	116 359	-1285 359	19 359
-177 96	1325 96	-3454 96	-3952 96	-171- 96	-3627 96	-4014 96	3972 96	-3983 96	-1461 96	1338 96	1482 96	-1750 96	437 96	-1081 96
-2353 45	-526 45	1410 45	-750 45	-862 45	-3320 45	-3835 45	1015 45	-259 45	-3694 45	-3794 45	8 4	356 45	-5548 45	-712 45
-3925 394	-29 394	4253 394	4466 394	4454 394	4343 394	4507 394	4472 394	4477 394	4463 394	-4472 394	2750 394	-2792 394	-5195 394	394 394
-665	-2145 275	66 275	4034 275	1587 275	-1268 275	4102 275	-4060 275	-1301 275	-3967 275	-1329 275	-524 275	540 275	4794 275	966 275
-193 -720	797 -720	2476 -720	-1920 -720	924 -720	571 -720	-1929 -720	2607 -720	1741 -720	573 -720	1453 -720	-3180 -720	-1061 -720	-5871 -720	475 -720 8/32
530 -466	-1778 -466	2276 -466	585 -466	417	-185 -466	1354 -466	1293 -466	2348 466	817 -466	978 -466	-1839 -466	-235 -466	-6793 -466	4034 -2578 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 28/32
-838 210	2491 210	-3309 210	4122	4070 210	-1305 210	4215	4164 210	4181 210	4015 210	4168 210	-929 210	-1415 210	-6019 210	4034 210 Tabelle 4
1277 -626	-7 -626	-1220 -626	415 -626	-1143 -626		833 -626	2104	-67 -626	-1241 -626	-705 -626	-1792 -626	-1493 -626	-6578 -626	1500 -626
•	-	-												-1378 -346 106 -1378
-1232 399	-2206 -3509 399	-699 -1419 399	66. 490. 89.	-704 -922 399	-765 -399	24 88 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	399	399	399	399	389	324 339 399	386	4395 399 -701
-3221 -381	-1115 -4317 -381	-1115 -2836 -381	-1115 -2673 -381	-1115 -260 -381	-1115 -2798 -381	-1115 2973 -381	-1-13 -2661 -381	-381 -381	-2774	278 278 -381	24.	-381 -381	-381 -381	-875 -875 -381 -1115
-864 43	-894 -525 -43	-894 -3531 43	4507 43	44 4 44 5 43 64	호 6 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-894 -4620 43	\$ 8 2	4585 4585 4585 4585	4359	4569 43 43	\$ 4 \$ 6 \$ 6 \$ 6 \$ 6	-884 -1557 -43	25 45 25 45 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55	4396 4396 894
-879 233	-11426 1738 233	-11426 -4113 233	-11489 -1809 233	-11527 -5068 233	-11527 -4410 233	-11527 -5264 233	-5197 -5197 233	-11527 -5221 233	-1152/ -4966 -233	-11527 -5204 233	73211- 834 233	-590 -2115 -233	-9952 -1531 233	-5019 -5019 233 -11527
	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-				-10485 -2728 -500 -10485
397	398	399	. 400	. 40 .	405 -	, 403	. 404 .	405	. 406	407	408	409	410	. #

591	592	593	594	595	989	597	298	288	009	601	602	603	604	605
-4852 -249	1877 -249	-5951 -249	4339 -249	3906 -249	-6442 -249	1627 -249	-936 -249	1810 -249	1570 -249	382 -249	-3591 -249	638 -249	383 -249	258 -249
-5170 -294	-3440 -294	-6428 -294	-2816 -294	1026 -294	-6941 -294	-4300 -294	-4231 -294	2033 -294	4504 -294	2604 -294	-4272 -294	4177 -294	-4168 -294	1977 -294
-587 -369	1009 -369	2105 -369	-6169 -369	-4336 -369	-5576 -369	-3737 -369	-1215 -369	-331 -369	-3889 -369	-1236 -369	-1726 -369	-3615 -369	500 -369	-3583
483	-1390	232	-6976 117	-3584	4212	1067 117	-1030	-2813	404	-8 30	2247 117	424	473	-314
-885 359	-46 359	-6511 359	-6634 359	1462 359	525 359	-2525 359	-1370 359	359	49 359	-1247 359	744 359	-2402 359	-580 359	-106 359
-5002 96	174 96	-7081 96	-6768 96	-3807 96	98 93	-747 96	-265 96	-3927 96	-2699 96	98 98	-2341 96	-2243 96	-2233 96	533 96
4708 45	794 45	-6860 45	-538 45	1972 45	4749 45	1591 45	-1821 45	2001	-2104 45	45 45	-579 45	-162 45	613 45	-558 45
3885 394	-1071 394	-6917 394	-7240 394	394	394 394	-65 394	-3702 394	-4456 394	-1378 394	-4294 394	111 394	-3587 394	-566 394	475 394
4554 275	493 275	-6819 275	-5995 275	46 275	-4169 275	-2247 275	-542 275	-844 275	-2448 275	-1012 275	301 275	1846 275	48 275	1373 275
-3960 -720	-2214 -720	268 -720	1996 -720	-4070 -720	-5927 -720	-3206 -720	1023 -720	905 -720	-3405 -720	3600 -720	-225 -720	-3083 -720	-3073	113 -720
-1705 -466	159 -466	-3594 -466	-5320 -466	4822 466	-6784 -466	4131	-1825 -466	417	-1667 -466	4 8	-2200 -466	4009	4000	-3977 -466
-1470 210	467 210	-6962 210	-7401 210	-3410 210	-5288 210	-1860 210	-681 210	4078 210	-2183 210	-3495 210	-238 210	-51 210	326 210	1214 210
4375 -626	504 -626 •	3284 -626	-6013 -626 *	-4733 -626	-6677 -626	4185 -626	-4056 -626 *	1638 -626 *	4291 -626	-1113 -626	-1155 -626 *	4063 -626 *	4054 -626	-4033 -626
-4650 106 -1378	-2866 106 -1378	-7004 106 -1378	-309 106 1378	-3510 106 -1378	4973 106 -1378	1940 106	106	25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 2	664 106 1378	-3056 106 -2299	106 106 106	년 1월 5 1월 5 1월 5 1월 5 1월 5 1월 5 1월 5 1월 5	हिं है	-166 -262
-1375 399 -701	399 -701	399 399 -701	-7386 399 -701	-1214 399 -701	3298 399 -701	399	.1292 389	399	2854 399 -701	399 399 328	286 289 75	399	1631 399 24	489 399 -2590
4778 -381 -1115	323 -381 -1115	262 -381 -1115	2309 -381 -115	-4183 -381 -1115	-6820 -381 -1115	-1241 -381	.381 -381 -381	381	4563 -381 -1115	308 -381 -115	-4406 -381	75 -381 -1115	-381 -115	-4283 -381 -1115
-5211 43 -894	-3127 43 -894	-7027 -43 -894	-7856 43 -894	-3359 -894 -894	4189 43 -894	1526 43	3238 43 843	-1279 -843	962 43 43 43	-1922 43	8 5 5 5 8	617 84 84 84	64 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54 54	-877 -834 -894
-5545 233 -11527	-733 233 -11527	-7370 233 -11527	-7502 233 -11527	-3604 233 -11527	633 233 -11527	2070 233	-166 -233 -166 -166 -166 -166 -166 -166 -166 -1	233 233 2457	618 233 4914	-1486 233 -11479	1128 233 -3606	833 233 1404	1222 233 -5680	870 233 -851
-3750 -500 -10485	2352 -500 -10485	4203 -500 -10485	-6045 -500 -10485	-4302 -500 -10485	4606 -500 -10485	-500 -500 -500	463-	-2720 -500 -500 -500	-500 -10485	598 -500 -10437	-4087 -500	-3993 -500 -10367	-3984 -500 -10362	-3961 -500 -10334
-463 -149 -1	466 -149 -149	4702 -149 -1	-7127 -149 -1	-1722 -149 -1	-1586 -149 -1	-2645 -149	-2625 -149	-1034 -149	-2907 -149 -50	474 -149	238 -149	194-	.376 -149 -30	127 -149 -1169
412	43	44 ' '	415	416	417	44	419	450	421	422	423	424	425	426

Tabelle 4, Blatt 29/32

606	è	809	612	614	615	919	617	627	629	631	632	633	634	635
863 -249	-249	-2204 -251	-1511 -251	-2217 -249	1948 -249	-5251 -249	-2736 -252	-1201 -250	-1909 -250	750 -249	-3284	-448 -249	-712 -249	-3390 -249
-2101 -294	-294	3918 -296	1890 -296	-2898 -294	-2990 -294	-6158 -294	-3243 -297	-1662 -295	-2412 -295	-3874	-3932 -294	-4023 -294	-294 -294	-294 -294
773 -369	-369	-2248 -369	496 -369	972 -369	-2055 -369	-5704 -369	-2164 -362	-304	-1484 -370	-3252 -369	312 -369	-3437 -369	-1038 -369	-3504 -369
-1675 117	12	-1240 117	-1319 122	-1186 117	-552 117	4304	1385 118	1361	-987 117	-2257 117	-946 117	-976 117	700	410
-256 359 452	359	358 358	-1790 359	1202 359	-2445 359	-3918 359	-873 358	-734 359	-970 360	-912 359	214 359	-1148 359	-213 359	683 359
-2642 96 -1217	96	967	-2009 94	651 96	-2508 96	86 96	-1831 93	-925 96	-1362 95	-2078 96	-2142 96	2733 96	98 88	909
-294 45	45	489	-1651 44	649 45	45	-3099 45	-1234 43	-536 45	-939 45	-320 45	59 45	ጵ 상 상	486 45	-122 45
-708 394 689	88	-2373 394	191 392	-2315 394	1008 394	3905 394	-2118 394	-1864 394	-2133 395	-3404 394	394	394 394	-3499 394	-187 394
2687 275 1862	275	-940 277	-2001 276	-858 275	-2452 275	-2764 275	3091 278	2411	2383	766 275	2472 275	-2032 275	291 275	449 275
970 -720 -2058	-720	-1750 -722	-656 -722	930 -720	-1775 -720	-5374 -720	-2184 -723	-403 -721	3596 -721	-2762 -720	-2818 -720	-2922 -720	-2944 -720	1209 -720
-1506 -466 -2980	466	-2635 -468	353	-2727 -466	•		-3025 468	-1043 466	-2033 -466	-705 -466	-1918 -466	-267 -466	-3856 -466	54 1 -466 .
-2665 210 *	210	212	-1845 209	772 210	-2179 210	-1184 210	-1441 209	-611 210	-1029 210 *	-345 210	-1645 210 •	-1638 210 *	786 210	280 210 *
1132 -626 *	-626	-2639 -628 •	2094 628 •	-2778 -626	980 979 •	-6205 -626 •	-2894 -623	1389 -624	-1815 -627	-915 -626 •	691 -626 •	-3861 -626 •	945 -626 *	-3948 -626
-2061 106 -151 -1106	5 8 8	8 2 4 5 4 5		-1003 -1003										-
1540 399 -3333 736	399 4938	-2279 400 -4263	-383 400 4205	460 399 -997	-1180 399 -2650	-1353 399 -3963	1519 400 -5349	-1618 398 -3801	956 398 434	-1542 399 -2057	399 399 -2369	-1288 -2362 -2362	333 -326 -326	839 399 -1934
1776 -381 -1115	-381	-2928 -378 -1254	-1448 -382 -6308	-3030 -381 -1115	-66 -381 -1115	-6338 -381 -1115	-3143 -383 -262	-1277 -378 -4184	-2142 -377 -4987	492 -381 -1115	-3981 -381 -1115	4126 -381 -1115	-977 -381 -1115	4201 -381 -1115
408 43 -894 1104	-894 -894	648 44 44	-149 -18	907 43 -894	-2324 43 -894	-389 -894 -894	-1067 42 -2592	-725 43 -82	<u>5</u> 8 4	-265 -43 -894	8 4 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	6 8 8 8 8 8	1293 43 43 43	-1724 43 -894
-3572 -233 -2033 -465	233	1871 233 -9685	1505 233 4066	233 233 -9771	3026 233 -10893	168 233 -266	-1043 232 -2204	-1115 233 -2440	-1081 232 -8465	2713 233 -11161	-133 -123 -1234	-136 233 -11269	-2291 233 -11297	-130 233 -3060
-1653 -500 -9169 -2965											•			
-459 -149 -408 -1483														
427		429		431	432	433	434	435	436	437	87 , 5	64 · · .	44 · ·	1

Tabelle 4, Blatt 30/32

929	637	638	639	640	2	642	643	44	629	099	199	662	663	664
-3152 -249	1195 -249	1654 -249	-3442 -249	227 -249	2123 -249	670 -249	-640 -249	-2951 -244	-1787 -249	-2595 -249	402 -249	2663 -249	-3359 -249	853 -249
-3759 -294	2049	4459 -294	4124 -294	1707 -294	-3725 -294	-4147 -294	-294 -294	-3640 -261	-2141 -294	-3255 -294	2785 -294	-3560 -294	4041 -294	4154 -294
-3065 -369	-1510 -369	-515 -369	-723 -369	-1049 -369	-1416 -369	-804 -369	-3486 -369	-3079 -378	-78 -369	-2651 -369	-1752 -369	-2769 -369	-383 -369	-527 -369
365 117	-1039	33	-503	-2401	832	-812	982	739 125	1793	700	-885 117	-2290 117	205	-962 117
196 359	-1188 359	-3268 359	1074 359	-369 359	-520 359	-1403 359	483 359	602 360	1106 359	444 359	-1428 359	451 359	175 359	-2393 359
-577 96	871 96	-3734 96	716 96	88 88	-2447 96	96 98	1382 96	898 84	488 96	477 96	-3406 96	1402 96	179 96	96
-1624 45	683 45	-908 45	599 45	-1774 45	-585 45	1063 45	1106 45	-1143 42	-2483 45	-871 45	-710 45	140 45	2036 45	1711 45
3452 394	1881 394	-823 394	-1468 394	275 394	-3681 394	744 394	-3460 394	-3027 385	-3340 394	-26 394	394 394	-1131 394	37	-831 394
2087 275	908 275	-3820 275	1286 275	-2203 275	-506 275	1233 275	-738 275	1526 274	-2784 275	994 275	-3463 275	-2198 275	227 275	-137 275
2480 -720	1222 -720	1178 -720	-3030 -720	-2706 -720	855 -720	-3053 -720	-235 -720	-2550 -701	910 -720	512 -720	224 -720	-2394 -720	-720	-3057 -720 /32
434	-3762 -466	466 466	-1627 -466	-3541 -466	-505	-3980 -466	-292 466	-3473 -473	120 -466	-648 -466	1807 466	-1777 -466	-244 -466	-358 -466 Blatt 31
-1675 210	-1532 210	-3923 210	967 210	-1827 210	-113 210	896 210	913 210	-283 214	715 210	-914 210	210	824 210	612 210	105 -358 -3 210 -466 - 1 Tabelle 4, Blatt 31/32
-749 -626	-1353 -626	-952 -626	-1114 -626	-1653 -626	749	4035 -626	-1451 -626	-3530 -633 •	-73 -626	-3058 -626	183 -626	590 -626	-277 -626	-542 -626 T
-2036 106	-131 -1947 106	364	2 - 4 - 5 -	424 106 106 106	-2287 106 -551	2394 106 -266	-2025 106 -170	-1599 105 68	-2133 106	-1318 106 -1019	-2797 106 -347	1022 106 -1716	-267 106 1071	597 106 -297
399	-3527 -151 399 -1708	399	399 399 275	399	3595	3465	399 399	396 446	3286	2656 399 -981	-3947 399 -2224	399 -524	.1336 399 -932	-1165 399 -2427
589 -381	-1115 -4059 -381 -1115	1165 -381 444	-381 -381	-1033 -381 -115	889 -381	.381 -381	4185 -381	-3776 -387 -188	1577 -381 -1115	318 -381 -115	26 -381 -1115	1305 -381 -1115	-4178 -381 -1115	.381 -381 -1115
-27 43	-894 227 43 43	4321	£ 54 84	985 43 894	1427 43	8 4 8	716 43	892 49 3030	-3099 43	1702 43 484	43 -894	-1946 -894	480 43 43	909 43 43
1165	-11162 -781 233 -11162	-1427 -133 -1264	624 233 4899	1602 233 -11304	267 233 -11331	282	535 233 -1525	2309 242 -2132	-3708 233 -10276	372 233 -10354	233 233 -11056	-2499 -233 -2891	39 233 -11256	-624 233 -11399
-3504	-10119 -3751 -500 -10119	-2472 -500 -500	-3941 -3941 -500 -10311	2734 -500 -10262	-3417 -500 -500	-3964 -500 -10337	-3864 -500	3458 -509 -1480	-1691 -500 -9234	1159 -500 -9312	-2335 -500 -10014	-3251 -500 -10101	-3858 -500 -10214	-3966 -500 -10357
	-149 -149													
442	. 43	4.	445	446	44	448	449	450	451	452	453	454	455	456

999			999			299			899			699		į	670		į	671		į	672		
493	-249		-721	-249		-564	-249		-2825	-249		-3084	-249		333	-249		-2821	-249	;	-5419	•	
-3049	-294		4 164	-294	,	926	-294		-3165	-294		-3513	-294		-4275	-294		1583	-294	,	-5467	•	
805	-369		-3602	-369		-3603	-369	!	405	-369		1203	-369		-3714	-369		212	-369		-5825	•	
-2705	117		102	117		246	117		-2817	117		-373	117		 54 54	117		493	117	-	4930	•	
-107	328		497	328		926	329		-1315	329		-610	329		879	328		946	328		-5184	•	
-3867	98		-238	96		667	98		1634	96		-3103	98		8	96		-3971	96		3918	•	
-3689	45		1327	45		-578	45		4	45		449	45		-19	45		-3790	45		8 3	*	
4361	394		- 8 30	394		459	394		447	394		411	394		565	394		447	394		-5670	*	
-3956	275		-992	275		753	275		4058	275		1311	275		810	275		4058	275		4432	•	
-1794	-720		-115	-720		-3070	-720		2808	-720		-2294	-720		-3181	-720		-1910	-720		ထ	*	
377	466		-2375	466		-3997	-466		1812	-466		-416	466		-518	466		1067	466		-5643	*	
-1564	210	•	2057	210	•	1359	210	•	4160	210	*	-2790	210	•	60g-	210	•	-1193	210	•	-2098	•	0
2992	-626	•	-250	-626	•	4052	-626	•	-193	-626	•	1522	-626	•	4164	-6 26	•	959	-626	•	-1505	•	*
-3183	106	-297	-2141	106	-297	-2141	106	-3104	-3291	106	-1378	-2791	106	-1378	1287	106	-1378	-3291	106	-1378	2106	*	•
-1573	399	-2427	-3482	399	-2427	961	399	-178	-1787	399	-701	-1460	399	-7	692	330	-701	-2059	388	-701	-5764	•	•
-188	-381	-1115	-4301	-381	-1115	-4302	-381	-1115	-2662	-381	-1115	-3135	-381	-1115	4413	84	-1115	2589	-381	-1115	-6756	•	*
-4470	43	-894	-586	43	-894	-648	53	-894	-4559	5	-894	-2942	43	-894	-287	43	-894	-1784	43	-894	-1531	•	•
-5105	233	-11399	870	233	-11399	-2356	233	-11399	-5193	233	-11527	1889	233	-11527	352	233	-11527	-5195	233	-11527	-6219	•	*
-2591	-500	.10357	.3980	-20	-10357	-3981	-50	-10357	504	-200	-10485	-3114	-200	-10485	4092	200	-10485	-2707	-500	-10485	-5869	•	٠
99	-149	3	77.	-149	Ç	824	-149	?	-262	-149	7	608	-149	7	1064	-149	٦	1044	-149	7	-5309	•	•
457	i .	,	458	3.		459			460			461			462			463			464		

Tabelle 4, Blatt 32/32

SEQUENZPROTOKOLL

```
EPO-BERLIN
<110> Bayer CropScience GmbH
                                                            30-09- 2003
<120> Pflanzen mit verringerter Aktivität eines
     Verzweigungsenzyms der Klasse 3
<130> BCS 03-5004
<140>
<141>
<160> 6
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 1004
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum
<400> 1
tcaaactagt cacaaccagt ccatttctgg aggtcgttcc ttcgcagaaa tactgattgg 60
taactccttg gggaaatcct ccatatcaca agagtcatta cttagaggct gctcgttaca 120
caagatgatc agattaatta catctacaat tggtggtcat gcatacctca acttcatggg 180
caatgaattt ggtcacccaa agagagtaga gtttccaatg tcaagcaaca atttctcctt 240
ttcactggct aaccgtcgct gggatctatt ggaagatgtt gtacattatc aattgttctc 300
atttgataag ggtatgatgg acttggataa aaatgggaga attttgtcca gaggtcttgc 360
caacattcac catgtcaatg atactaccat ggtgatttct tacttgagag gtcccaatct 420
ctttgtgttc aactttcatc ctgtcaattc atatgaaaga tacattatag qtqtqqaaga 480
agctggagag tatcaagtca cattaaatac agatgaaaac aagtatggtg gtagaggact 540
acttggccat gatcagaata ttcaaagaac cattagtaga agagctgatg gaatgagatt 600
ttgcttggaa gtgcctctgc caagtagaag tgctcaggtc tacaagttga cccgaattct 660
aagagcatga tcactctagt aatcaaagtg cctcatatga tgacacaaaa ggaaaggttc 720
tacattgccc ttacactgat caatattgac acctttccga ggtgagtttc tgtgattctt 780
gageagaetg ttggetagte aattateatg aacttttgee tteageatee ggatagtege 840
ttctcctgtg caatgagggc atggacgaat ttttttttgg cttgtcatgg gggtcataag 900
catccgccag attaagattt cacaggcctc gagtaaaacc atcacttact ttaaggatac 960
acaaacacac caacggggtg caggctctga taccttctaa agtg
<210> 2
<211> 2096
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum
<400> 2
aacaatgctc tctctgtcgg attcaattcg aatttcttca ccattgagcg attctcqtct 60
```

```
tagttttcta tctcaaaccg gaagcagaac cagtcgccag cttaaatttg ttcgcagccg 120
ccgggctcga gtttcgaggt gtagatgctc agcaacggag caaccgccac cgcaacgacg 180
gaagcaacga ccggagaagt acaaacagtc ggaggaaggg aaaggaatcg atcctgttgg 240
atttctcage aaatacggca ttactcataa agcgtttgct caatttcttc gtgaaagata 300
taaatcattg aaggacttga aggatgaaat attgactcgt catttcagtc tcaaggagat 360
gtctactggg tatgaattaa tgggtatgca tcgcaacata caacatcgag tggatttctt 420
ggaatggget ceaggtgete getactgtge tetgattggt gaetteaatg ggtggteaac 480
aactggtaac tgtgccagag agggtcattt tggtcatgac gattatgggt attggtttat 540
tattcttgaa gataaattac gtgaaggaga agaacctgat aaattgtatt ttcaacagta 600
caattatgcg gaggactatg gtaaaggtga cacgggtatt accgtcgagg aaatctttaa 660
aaaagcaaat gatgagtatt gggaacctgg agaagatcgc ttcattaaat cacgttatga 720
ggtggcagca aagttatatg aggaaatgtt cggaccaaat ggacctcaaa cagaagagga 780
actagaagca atgeetgatg cagetacaeg atacaaaact tggaaagagc aacaaaaaga 840
ggatccggca agcaatttgc catcgtatga tgtggtagat agtggaaaag aatatgatat 900
ttacaatatt ataggtgatc ctgaatcgtt taagaaattt cgtatgaaac agcctcctat 960
tgcttactgg ttagaaacta aaaagggaag gaaaggctgg ttacagaaat atatgcctgc 1020
tttacctcat ggaagcaaat acagggtgta ttttaacaca ccaaatgggc ctcttgaacg 1080
agttcctgcg tgggccaatt ttgtcattcc agatgcaggc gggatggcat tagcagtcca 1140
ttgggaacca cctcctgaat atgcttataa atggaaacac aagctaccag tcaagcctaa 1200
gtccttgcgc atatatgaat gtcatgttgg catctctggc caggaaccaa aagtttcatc 1260
tttcaatgat tttattagca aggtccttcc gcatgtaaaa gaagctggat acaatgcaat 1320
acaaattatt ggagttgttg agcacaagga ttatttcact gttggatata gagtgaccaa 1380
tttttatgct gttagtagcc gttatggcac accggatgac ttcaagcgct tggttgatga 1440
agcacatggg cttggactgc ttgtcttttt ggagattgtg cactcttatg cagcagcaga 1500
tgaaatggtt gggttatctc tttttgatgg agcaaatgat tgctatttcc acactggtaa 1560
acgtggacac cacaaattct ggggcacacg gatgttcaaa tatggagatc ttgatgttct 1620
gcactttctt ctttcaaatc tgaactggtg ggtggaggag tatcatgtcg atggcttcca 1680
ttttcattcg ctctcgtcca tgttgtatac gcataatgga tttgcttcat ttactggtga 1740
catggatgaa tactgtaacc aatatgttga caaggaggcc ttattgtacc tcatattagc 1800
aaatgaagta ttacatgctc ttcatcctaa tgtgatcacg attgctgagg atgcaactct 1860
gtatcctgga ctctgcgatc caacatctca aggtggactg ggctttgatt attttgccaa 1920
tetttetgee teagagatgt ggettgeatt acttgaaaat acteetgate atgaatggtg 1980
catgagtaag attgttagca cattagtggg cgatagacaa aatactgata aaatgctttt 2040
gtatgcagaa aatcacaacc agtccatttc tggaggtcgt tccttcgcag aaatac
                                                                  2096
```

```
<210> 3
<211> 3204
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum

<220>
<221> CDS
<222> (99)..(2804)

<400> 3
```

gaattgtaat acgactcact atagggcgaa ttgggccctc tagatgcatg ctcgagcggc 60

cgc	cagt	gtg	atgg	atat	ct g	caga	atto	g gc	ttaa						cg g Ser A 5	at 116 sp
				Ser					Asp					Phe	cta Leu	
								Arg							agc Ser	212
Arg	Arg 40	Ala	Arg	Val	Ser	Arg 45	Cys	Arg	Суѕ	Ser	Ala 50	Thr	Glu	Gln	ccg Pro	260
Pro 55	Pro	Gln	Arg	Arg	Lys 60	Gln	Arg	Pro	Glu	L ys 65	Tyr	Lys	Gln	Ser	70	308
Glu	Glu	Lys	Gly	Ile 75	Asp	cct Pro	Val	Gly	Phe 80	Leu	Ser	Lys	Tyr	Gly 85	Ile	356
Thr	His	ГÀЗ	Ala 90	Phe	Ala	caa Gln	Phe	Leu 95	Arg	Glu	Arg	Tyr	Lys 100	Ser	Leu	404
Lys	Asp	Leu 105	Lys	Asp	Glu	ata Ile	Leu 110	Thr	Arg	His	Phe	Ser 115	Leu	Lys	Glu	452
Met	Ser 120	Thr	Gly	Tyr	Glu	tta Leu 125	Met	Gly	Met	His	Arg 130	Asn	Ile	Gln	His	500
Arg 135	Val	Asp	Phe	Leu	Glu 140	tgg Trp	Ala	Pro	Gly	Ala 145	Arg	Tyr	Cys	Ala	Leu 150	548
Ile	Gly	Asp	Phe	Asn 155	Gly	tgg Trp	Ser	Thr	Thr 160	Gly	Asn	Cys	Ala	Arg 165	Glu	596
						gat Asp										644

							•										
				-	-						-			• 00			•
	gat	aaa	tta	cgt	gaa	gga	gaa	gaa	cct	gat	aaa	ttg	tat	ttt	caa	cag	692
	Asp	Lys	Leu	Arg	Glu	Gly	Glu		Pro	qaA	ГÀв	Leu		Phe	Gln	Gln	
			185					190					195				
	tac	aat	tat	gcg	gag	gac	tat	gat	aaa	ggt	gac	acg	ggt	att	acc	gtc	740
						Asp											
		200					205					210					
	asa	gaa	atc	ttt	aaa	aaa	qca	aat	qat	qaq	tat	tgg	gaa	cct	gga	gaa	788
						Lys											•
	215					220					225					230	
		000	++0	2++	222	tca	cat	tat	gag	ata	gca	gca	aaq	tta	tat	qaq	836
						Ser											
	_				235					240					245		
			++-	~~~	000	aat	aas	cct	caa	aca	gaa	gag	gaa	cta	σaa	gca	884
						Asn											
				250					255					260			
										20+	+~~	222	asa.	caa	caa	222	932
						aca Thr											332
			265					270					275				
									.		~a=	~+ ~	ata	gat	ant	aaa	980
•																gga Gly	500
	-1-	280					285					290					
									_ 4				~~~	+	+++	220	1028
																aag Lys	1020
	295					300					305					310	
														~~~	201	- 222	1076
																aaa Lys.	1075
	Dy S	2110	. ALS	1100	315					320		_			325		
																	1124
																cat His	1124
	пуа	о оту	, wra	330		112			335					340			
																	1170
																gaa Glu	1172
	GTŽ	, ser	: Lys 345		AIC	, ver	. туг	350				- noi	355			<b>-</b>	
																g atg	1220
	Arg	7 Val 360		Ala	a Trp	Ala	369 369		; val	r TT6	: PIC	370		r wal	, GT)	/ Met	
			-														i

	gca	tta	gca	gtc	cat	tgg	gaa	cca	cct	cct	gaa	tat	gct	tat	aaa	tgg	1268
	Ala	Leu	Ala	Val	His	Trp	Glu	Pro	Pro	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Trp	
	375					380					385					390	
	aaa	cac	aag	cta	cca	gtc	aag	cct	aag	tcc	ttg	cgc	ata	tat	gaa	tgt	1316
						Val					_				_	_	
•	_		_		395		_		_	400		_		-	405	-	
	cat	gtt	ggc	atc	tct	ggc	çag	gaa	cca	aaa	gtt	tca	tct	ttc	aat	gat	1364
						Gly					_						
			-	410		_			415	•				420		•	
	ttt	att	agc	aaq	gtc	ctt	ccg	cat	qta	aaa	qaa	act	qqa	tac	aat	qca	1412
						Leu										-	
			425	•				430					435	-2-			
	acq	caa	att	att	gga	gtt	att	gag	cac	aaσ	gat	tat	ttc	act	att	gga	1460
						Val										. –	
		440			•		445					450				7	
	tat	aga	ata	acc	aat	ttt	tat	qct	att	agt	age	cat	tat	aac	aca	cca	1508
		_				Phe		-	_	_	_	_				_	
	455	_				460	-				465			4		470	
	gat	gac	ttc	aag	cgc	ttg	gtt	gat	gaa	qca	cat	ggg	ctt	gga	ctq	ctt	1556 `
						Leu				_							
	_	-		-	475			_		480		_		•	485		
	gtc	ttt	ttg	gag	att	gtg	cac	tcc	tat	gca	gca	gca	gat	gaa	atg	gtt	1604
	Val	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	His	Ser	Tyr	Ala	Ala	Ala	Asp	Glu	Met	Val	
				490					495				_	500			
	999	tta	tct	ctt	ttt	gat	gga	gca	aat	gat	tgc	tat	ttc	cac	act	ggt	1652
	Gly	Leu	Ser	Leu	Phe	Asp	Gly	Ala	Asn	Asp	Cys	Tyr	Phe	His	Thr	Gly	
			505					510					515				
	aaa	cgt	gga	cac	cac	aaa	ttc	tgg	ggc	aca	cgg	atg	ttc	aaa	tat	gga	1700
•	Lys	Arg	Gly	His	His	Lys	Phe	Trp	Gly	Thr	Arg	Met	Phe	Lys	Tyr	Gly	
		520					525					530					
	gat	cct	gat	gtt	ctg	cac	ttt	ctt	ctt	tca	aat	ctg	aac	tgg	tgg	gtg	1748
						His											
	535					540					545			_		550	
	gag	gag	tat	cat	gtc	gat	ggc	ttc	cat	ttt	cat	tcg	ctc	tcg	tcc	atg	1796
						Asp										_	
					555					560					565		

_		_					gct Ala									1844
	_				_	_	aag Lys 590		_		_					1892
_						-	ctt Leu									1940
	_	_		_			gga Gly		_	_						1988
	_			_			gcc Ala				-			_		2036
	<b>J</b>			-			cct Pro	_		_		•	_	_	_	2084
	_	_					gat Asp 670	_								2132
_		_	_				cag Gln						_			2180
_	_		_				tcc Ser	_								2228
				_			tcg Ser				_					2276
							gca Ala					_				2324
				_	_	_	gag Glu 750			_		_				2372

														gtt Val		2420
														gat Asp		2468
														gtc Val 805		2516
														ttt Phe		2564
														ggt Gly		2612
														aac Asn	_	2660
														aga Arg		2708
														cct Pro 885	_	2756
														aga Arg	_	2804
tgat	cact	ct a	gcaa	tcaa	a gt	gcct	cata	tga	tcac	aca	aaag	ggaa	igg 1	ttcta	cattg	2864
ccct	tata	ct g	acca	atat	t gt	ggco	tttc	cga	ggtg	agt	ttct	gtga	itt (	cttga	gcaca	2924
ggct	gttg	gc t	agto	agtt	a to	atga	actt	ttg	cctt	cag	cato	tgga	ıta a	agcgc	ttctc	2984
ctgt	gcaa	itg a	gggc	atgg	ja cg	aaat	ttt	ttg	gtto	gtc	atgg	gagt	ca a	aaago	atctg	3044
ccaç	jatta	ag a	tttc	acag	ig co	tcga	gtaa	aac	cato	act	tact	tagg	jat a	acaca	aacac	3104
atca	acgg	igg -t	gcag	gcto	t ga	tacc	ttct	aaa	gtga	agc	cgaa	ttcc	ag (	cacac	tggcg	3164

<210> 4

<211> 902

<212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 4

Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp 1 5 10 15

Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln
20 25 30

Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys Arg Cys 35 40 45

Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu 50 55 60

Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Glu Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe
65 70 75 80

Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg 85 90 95

Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 100 105 110

His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 115 120 125

His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly 130 135 140

Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 145 150 155 160

Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 165 170 175

Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Gly Glu Glu Pro Asp 180 185 190

Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Asp Lys Gly
195 200 205

Asp Thr Gly Ile Thr Val Glu Glu Ile Phe Lys Lys Ala Asn Asp Glu Tyr Trp Glu Pro Gly Glu Asp Arg Phe Ile Lys Ser Arg Tyr Glu Val Ala Ala Lys Leu Tyr Glu Glu Met Phe Gly Pro Asn Gly Pro Gln Thr Glu Glu Glu Leu Glu Ala Met Pro Asp Ala Ala Thr Arg Tyr Lys Thr Trp Lys Glu Gln Gln Lys Lys Asp Pro Ala Ser Asn Leu Pro Ser Tyr Asp Val Val Asp Ser Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Asn Ile Ile Gly Asp Pro Glu Ser Phe Lys Lys Phe Arg Met Lys Gln Pro Pro Ile Ala Tyr Trp Leu Glu Thr Lys Lys Gly Arg Lys Gly Trp Leu Gln Lys Tyr Met Pro Ala Leu Pro His Gly Ser Lys His Arg Val Tyr Phe Asn Thr Pro Asn Gly Pro Leu Glu Arg Val Pro Ala Trp Ala Asn Phe Val Ile Pro Asp Ala Asp Gly Met Ala Leu Ala Val His Trp Glu Pro Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Trp Lys His Lys Leu Pro Val Lys Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Cys His Val Gly Ile Ser Gly Gln Glu Pro Lys Val Ser Ser Phe Asn Asp Phe Ile Ser Lys Val Leu Pro His Val Lys Glu Ala Gly Tyr Asn Ala Thr Gln Ile Ile Gly Val Val Glu His Lys -Asp Tyr Phe Thr Val Gly Tyr Arg Val Thr Asn Phe Tyr Ala Val Ser

Ser Arg Tyr Gly Thr Pro Asp Asp Phe Lys Arg Leu Val Asp Glu Ala His Gly Leu Gly Leu Leu Val Phe Leu Glu Ile Val His Ser Tyr Ala Ala Ala Asp Glu Met Val Gly Leu Ser Leu Phe Asp Gly Ala Asn Asp Cys Tyr Phe His Thr Gly Lys Arg Gly His His Lys Phe Trp Gly Thr Arg Met Phe Lys Tyr Gly Asp Pro Asp Val Leu His Phe Leu Leu Ser Asn Leu Asn Trp Trp Val Glu Glu Tyr His Val Asp Gly Phe His Phe His Ser Leu Ser Ser Met Leu Tyr Thr His Asn Gly Phe Ala Ser Phe Thr Gly Asp Met Asp Glu Tyr Cys Asn Gln Tyr Val Asp Lys Glu Ala Leu Leu Tyr Leu Ile Leu Ala Asn Glu Val Leu His Ala Leu His Pro Asn Val Ile Thr Ile Ala Val Asp Ala Thr Leu Tyr Pro Gly Leu Cys Asp Pro Thr Ser Gln Gly Gly Leu Gly Phe Asp Tyr Phe Ala Asn Leu Ser Ala Ser Glu Met Trp Leu Ala Leu Leu Glu Asn Thr Pro Asp His Glu Trp Cys Met Ser Lys Ile Val Ser Thr Leu Val Gly Asp Arg Gln Asn Thr Asp Lys Met Leu Leu Tyr Ala Glu Asn His Asn Gln Ser Ile Ser Gly Gly Arg Ser Phe Ala Glu Ile Leu Ile Gly Asn Ser Leu Gly Lys Ser Ser Ile Ser Gln Glu Ser Leu Leu Arg Gly Cys Ser Leu His

Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Ser Thr Ile Gly Gly His Ala Tyr Leu
725 730 735

Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Lys Arg Val Glu Phe Pro 740 745 750

Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp
755 760 765

Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Asp
770 775 780

Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala 785 790 795 800

Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815

Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830

Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845

Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 860

Gln Asn Thr Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880

Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

<210> 5

<211> 3047

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<220>

<221> CDS

<222> (5)..(2710)

<400> 5

aaca	_			-		_									g agc	49
	Met	: Lev	ı Ser	Lev	ı Ser	: Asp	Ser	: Ile	Arc	, Ile	e Ser	Sei	Pro	Le	ı Ser	
	3	L			5	5				10	)				15	
gat	tct	cgt	ctt	agt	ttt	cta	tct	caa	acc	gga	agc	aga	acc	agt	cgc	97
Asp	Ser	Arg	Leu	Ser	Phe	Leu	ser	Gln	Thr.	Gly	Ser	Arg	Thr	Ser	Arg	
				20					25					30		
cag	ctt	aaa	ttt	gtt	cgc	agc	cgc	cgg	gct	cga	gtt	tcg	agg	tgt	aga	145
Gln	Leu	Lys	Phe	Val	Arg	Ser	Arg	Arg	Ala	Arg	Val	Ser	Arg	Сув	Arg	
			35					40					45			
tgc	tca	gca	acg	gag	caa	ccg	cca	ccg	caa	cga	cgg	aag	caa	cga	ccg	193
Cys	Ser	Ala	Thr	Glu	Gln	Pro	Pro	Pro	Gln	Arg	Arg	Lys	Gln	Arg	Pro	
-		50					55				_	60				
aaa	aaq	tac	aaa	caa	tca	gag	gaa	aaa	aaa	qqa	atc	gat	cct	att	qqa	241
	_			_	_	-	_				Ile					
	65	-1-	-1-			70				2	75					
						, ,										
+++	ctc	agc	aaa	tac	aac	att	act	cat	aaa	aca	ttt	act	caa	ttt	ctt	289
					-						Phe					
80			270	-7-	85				_,_	90					95	
00					0.5					,					20	
cat	gaa	aga	tat	aaa	tca	ttα	aag	gac	tta	ааст	gat	gaa	ata	tta	act	337
	_	-									Asp					
		5	-,-	100			-2-		105	-1 -				110		
cat.	cat	ttc	agt.	ctc	ааст	gag	atσ	tet	act	aaa	tat	gaa	tta	ato	aat	385
_											Tyr					
			115		-, -			120		1	-1 -		125			
atα	cat	cac	aac	ata	caa	cat	cga	ata	gat	tte	ttg	gaa	taa	act	cca	433
		_					_		_		Leu	_		_		
1100	1111	130	11011		0		135	•	1100			140				
		250														
aat	act	cac	tac	tat	act	cta	att	aat	gac	ttc	aat	aaa	taa	tca	aca	481
	_										Asn					401
CLY	145	mg	-7-	Cys	niu	150			p	2 110	155	O ₁			~~~	
	143															
act	aat	220	tat	acc	acra	gag	aat	cat	+++	aat	cat	gac	gat	tat	aaa	529
				-							His					لد ده پ
	GTÅ	WELL	Cys	WIG	165	GIU	GTÅ	mrg	FIIG	170	11712	rop	voħ	TYL	175	
160					703					1/0					1/3	
+~ <del>-</del>	+		- + + c		~++	<i>a</i> ==	m=+	227	++-		~= ~	~~	a>>	<b>~</b>	cat	577
							-			_	gaa Glu			_		J / /
TAL	TIP	FIIG	TIG	180	nen	GIU	vaħ	пХ¤	185	ary.	JIU	ary	GIU	190	FLO	
				TOA					<b>T02</b>					エフリ		

gat	aaa	a tte	g tat	t tt	t caa	a cag	g tac	aat	ta	t gc	g gag	g gad	c ta	t gg	t aaa	625
Asp	Lys	: Le	и Туг	r Pho	e Glr	ı Glı	туз	: Ası	Ty	r Al	a Gli	ı Ası	o Ty	r Gl	y Lys	
			195					200				_	20			
ggt	gac	aco	g ggt	att	acc	gto	gag	g qaa	ato	: tti	t aaa	a aaa	a gc	a aat	t gat	673
Gly	Asp	Thi	c Gly	/ Ile	. Thr	· Val	Glu	. Glu	ı Ile	e Phe	e Lvs	LVE	a Ala	a Agi	a Asp	073
		210					215					220		~	a vob	
													•			
gag	tat	tgg	g gaa	cct	gga	qaa	qat	cac	: ttc	: att	. aaa	tea	cal	t tat	gag	722
Glu	Tyr	Trp	Glu	Pro	Gly	Glu	Asp	Aro	Phe	T16	· Tive	. Ser	· Arc	· Cai	Glu	721
	225				•	230					235			9 1Y1	. GIU	
											450					
gtg	gca	gca	aag	tta	tat	gag	gaa	ato	tto	. aas		- aa+			: caa	560
Val	Ala	Ala	Lys	Leu	Tvr	Glu	Glu	Met	Phe	י פוע י פוע	Dro	, aac	990	. 55.	Gln	769
240			-		245				~ ~~	250		ASI	GI	PIC		
										250					255	
aca	gaa	gag	gaa	cta	gaa	qca	ato	cct	aat	aca	act	202	000		aaa	
Thr	Glu	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Met	Pro	Agn	Ala	י אני	mb~	. cga	. m	Lys	817
				260					265		MIG	1111	AIG			
									203					270		
act	tgg	aaa	gag	caa	caa	aaa	gag	gat	cca	aca	200	226			tcg	
Thr	Trp	Lys	Glu	Gln	Gln	Lvs	Glu	Agn	Dro	γla	age ~~~	aac Nam	to	CCa	Ser	865
	-	•	275			-,,	- Cau	280	710	A10	PET	ASII			ser	
								200					285			
tat	gat	gtg	gta	gat	agt	gga	aaa	gaa	tat	rat	a++	+20	224		ata	
Tyr	Asp	Val	Val	Asp	Ser	Glv	Lvs	Glu	Tur	Agn	TIO	The	<b>aa</b> L	acc Tla	ata	913
_	_	290				1	295		-1-	vob	116	300	ASII	TTE	тте	,
												300				
ggt	gat	cct	gaa	tcg	ttt	aaq	aaa	ttt	cat	ato	222	cac	cat	aat		0.51
Gly	Asp	Pro	Glu	Ser	Phe	Lvs	Lvs	Phe	Arg	Met	Live	Gla	Dro	Dro	TIA	961
	305					310			3		315	0.111	210	PIO	TTE	
gct	tac	tgg	tta	gaa	act	aaa	aag	qqa	agg	aaa	aac	taa	tta	CaG	222	1000
Ala	Tyr	Trp	Leu	Glu	Thr	Lys	Lys	Gly	Arg	Lvs	Glv	Trn	Len	Gln	Tare	1009
320					325	-	-	-		330	1		-JC4	GLII	335	
															333	
tat	atg	cct	gct	tta	cct	cat	qqa	age	aaa	tac	agg	ata	tst	+++	220	1055
Tyr	Met	Pro	Ala	Leu	Pro	His	Glv	Ser	Lvs	Tvr	Ara	Val	Tur	Dho	aac	1057
				340					345	-1-	9	<b>141</b>	-7-	350	Abii	
aca	cca	aat	<b>9</b> 99	cct	ctt	gaa	cga	gtt	cct	qca	taa	acc	aat	+++	ata	1100
Thr	Pro	Asn	Gly	Pro	Leu	Glu	Ara	val	Pro	Ala	Tro	200 e [ 4	Acn	Dho	yet Val	1105
			355					360					365	FIIC	val	
													200			
att	cca	gat	gca	ggc	999	ata	qca	tta	gca	atc	cat	taa	as.	000	aa+	1150
Ile	Pro	Asp	Ala	Gly	Gly	Met	Ala	Leu	Ala	Val	Hie	~~u	944 61	Dro	Dog:	1153
		370		-	- 2		375					380	JIU	r I O	LLO	

cct Pro	gaa Glu 385	tat Tyr	gct Ala	tat Tyr	aaa Lys	tgg Trp 390	aaa Lys	cac His	aag Lys	Leu	cca Pro 395	gtc Val	aag Lys	cct Pro	aag Lys	1201
tcc Ser 400	ttg Leu	cgc Arg	ata Ile	tat Tyr	gaa Glu 405	tgt Cys	cat His	gtt Val	ggc Gly	atc Ile 410	tct Ser	ggc	cag Gln	gaa Glu	cca Pro 415	1249
aaa Lys	gtt Val	tca Ser	tct Ser	ttc Phe 420	aat Asn	gat Asp	ttt Phe	att Ile	agc Ser 425	aag Lys	gtc Val	ctt Leu	ccg Pro	cat His 430	gta Val	1297
aaa Lys	gaa Glu	gct Ala	gga Gly 435	tac Tyr	aat Asn	gca Ala	ata Ile	caa Gln 440	att Ile	att Ile	gga Gly	gtt Val	gtt Val 445	gag Glu	cac His	.1345
aag Lys	gat Asp	tat Tyr 450	Phe	act Thr	gtt Val	gga Gly	tat Tyr 455	aga Arg	gtg Val	acc Thr	aat Asn	ttt Phe 460	tat Tyr	gct Ala	gtt Val	1393
agt Ser	ago Ser 465	Arg	tat Tyr	ggc	aca Thr	ccg Pro 470	Asp	gac Asp	ttc Phe	aag Lys	cgc Arg 475	Leu	gtt Val	gat	gaa Glu	1441
gca Ala 480	A His	: ggs	g ctt / Lei	gga Gly	ctg Leu 485	Leu	gtc Val	ttt. Phe	ttg Leu	gag Glu 490	Ile	gtg Val	cac His	tct Ser	tat Tyr 495	1489
gca	a gca a Ala	a gca	a gat a Asj	gaa Glu 500	ı Met	g gtt : Val	. gly	tta Leu	tct Ser 505	Leu	ttt Phe	gat Asp	gga Gly	gca Ala 510	aat Asn	1537
ga! Asj	t tg	c ta	t tte r Pho 51	e Hi	c act s Thi	ggt Gly	aaa Lys	a cgt s Arg 520	Gl7	cac His	c cac	c aaa s Lys	tto Phe 525	Tr	o Gly	1585
ac Th	a cg r Ar	g at g Me 53	t Ph	c aa e Ly	a tai	t gga r Gl	a gat y Asj 53!	p Let	gat 1 Asj	c gtt p Va:	t cto	g cad u His 540	3 Phe	ct Le	t ctt u Leu	1633
to · Se	a aa r As 54	n Le	g aa u As	c tg n Tr	g tg p Tr	g gt p Va 55	l Gl	g gaq u Gl	g ta u Ty:	t cai	t gt s Va 55	l As	t gg p Gl	c tt y Ph	c cat e His	1681
t t Ph 56	e Hi	t to .s Se	g ct r Le	c to	g tc r Se 56	r Me	g tt t Le	g ta u Ty	t ac	g ca r Hi 57	s As	t gg n Gl	a tt y Ph	t gc e Al	t tca a Ser 575	

	act Thr		_	_	•	_		_				_	•	_		1777
_	: tta 1 Leu	_							_	_			_			1825
	aat Asn			_		_		_	_		_					1873
	gat Asp 625										-			_		1921
	tct Ser	_		-	_			_			_				-	1969
	t gaa s Glu	_	_					-	_			_	_	-	_	2017
	a aat n Asn		_		_		_		_	_				_		2065
	t tct e Ser			_			_	_		_					_	2113
	g aaa y Lys 705															2161
	c aag s Lys 0															2209
	c aac u Asn										_	_	_			2257
	a atg o Met		_							_	_		_	_		2305

gat	cta	ttg	gaa	gat	gtt	gta	cat	tat	caa	ttg	ttc	tca	ttt	gat	aag	2353
Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Val	Val	His	Tyr	Gln	Leu	Phe	Ser	Phe	Asp	Lys	
		770					775					780				
ggt	atg	atg	gac	ttg	gat	aaa	aat	999	aga	att	ttg	tcc	aga	ggt	ctt	2401
Gly	Met	Met	Asp	Leu	Asp	Lys	Asn	Gly	Arg	Ile	Leu	Ser	Arg	Gly	Leu	
	785					790					795					
gcc	aac	att	cac	cat	gtc	aat	gat	act	acc	atg	gtg	att	tct	tac	ttg	2449
Ala	Asn	Ile	His	His	Val	Asn	Asp	Thr	Thr	Met	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	
800					805					810					815	
aga	ggt	ccc	aat	ctc	ttt	gtg	ttc	aac	ttt	cat	cct	gtc	aat	tca	tat	2497
Arg	Gly	Pro	Asn	Leu	Phe	Val	Phe	Asn	Phe	His	Pro	Val	Asn	Ser	Tyr	
_	-			820					825					830	-	
gaa	aga	tac	att	ata	aat	ata	gaa	qaa	act	qqa	gag	tat	caa	gtc	aca	2545
						_	_	_	_					Val		
	- 5		835		2			840		1		-2-	845			
tta	aat	aca	gat	σaa	aac	aaσ	tat	aat	aat	aga	gga	cta	ctt	ggc	cat	2593
														Gly		
		850				-4 -	855	2	2	3	2	860		1		
gat	cag	aat	att	caa	aga	acc	att	agt	ада	aga	act	gat	gga	atg	aga	2641
														Met		
	865				9	870			9		875		U.,	1100		
						0,0					0.5					
ttt	tac	tta	gaa	ata	cct	cta	cca	agt.	aga	agt.	act	caq	atc	tac	aad	2689
														Tyr	_	2003
880	-,-				885					890		01	V 44.4	-7-	895	
										050					0,5	
tta	acc	cga	att	cta	aga	gca	tgat	cact	ict a	actaa	tcaa	a of	acct	cata	i	2740
	Thr						-5			.,		5.	.500.		-	2710
		3		900	5											
toat	gaca	ica a	aaaa	raaac	ra ti	ctac	catto	a GCC	ttac	ract	gato	aata	att c	racac	ctttc	2800
-5	-5			,	,, ,,			,		Juu 0	9400		:	Jucuc		2000
caac	ataa	at t	tete	atgat	t ct	:taac	caga	acto	attac	rcta	atca	atta	atc a	tgaa	ctttt	2860
-5-5	,,,-,,-			, - 5			Juagu	- 005	,	Joca	9000			regue		2000
acct	tcac	ica t	.ccac	ratac	at co	ictto	rteet	- atc	rcaat	nan	aacs	taas	:	22+++	ttttt	2920
5000		,	.0095	,	,	,000		- 9-5	Jeau	-949	9900	936	acy c	aacc		2,20
taac	ttat	ca t	gaaa	atros	at a=	igeat	ccar	. cac	att:	aada	ttto	acec	ממר י	straa:	ıgtaaa	2990
-336	91		לבבכי	22000	46	.5041	9	۔ دعر	,400	.uya		.uca <u>e</u>	,90 (	Luga	guada	2700
accs	atcec	:::: =	ic+++	. 2200	ra t-	icac:	3225	n car	יכבי	aaa	ataa	יאמי	.+~ .	-dat-	ccttc	3040
~~~	···				, c			- Cal	Juan	-222	2-90	.~396	, L L	-yaca		2040
taas	agtg															3047
	-5-5															204/

- <210> 6
- <211> 902
- <212> PRT
- <213> Solanum tuberosum
- <400> 6
- Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp

 1 10 15
- Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln
 20 25 30
- Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys Arg Cys 35 40 45
- Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu 50 55 60
- Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Gly Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe 65 70 75 80
- Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg 85 90 95
- Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 100 105 110
- His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 115 120 125
- His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly 130 135 140
- Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 145 150 155 160
- Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 165 170 175
- Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Gly Glu Glu Pro Asp 180 185 190
- Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Gly Lys Gly
 195 200 205
- Asp Thr Gly Ile Thr Val Glu Glu Ile Phe Lys Lys Ala Asn Asp Glu 210 215 220

Tyr 225	Trp	Glu	Pro	GTÀ	Glu 230	qaA	Arg	Pne	IIe	Lys 235	ser	arg	ıyr	GIU	240
Ala	Ala	Lys	Leu	Tyr 245	Glu	Glu	Met	Phe	Gly 250	Pro	Asn	Gly	Pro	Gln 255	Thr
Glu	Glu	Glu	Leu 260	Glu	Ala	Met	Pro	Asp 265	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr 270	Lys	Thr
Trp	Lys	Glu 275	Gln	Gln	Lys	Glu	Asp 280	Pro	Ala	Ser	Asn	Leu 285	Pro	Ser	Tyr
Asp	Val 290	Val	Asp	Ser	Gly	Lys 295	Glu	Tyr	Asp	Ile	Tyr 300	Asn	Ile	Ile	Gly
Asp 305	Pro	Glu	Ser	Phe	Lys 310	Lys	Phe	Arg	Met	Lys 315	Gln	Pro	Pro	Ile	Ala 320
Tyr	Trp	Leu	Glu	Thr 325	Lys	Lys	Gly	Arg	1330	Gly	Trp	Leu	Gln	Lys 335	Tyr
			340				Ser	345					350		
		355					Val 360					365			
	370			-		375	Leu				380				
385					390		His			395					400
				405			Val		410					415	
			420				Ile	425					430		
		435					Gln 440					445			
	450					455					460				
Ser	Arg	Tyr	Gly	Thr	Pro	Asp	Asp	Phe	Lys	Arg	Leu	Val	Asp	Glu	Ala

- His Gly Leu Gly Leu Leu Val Phe Leu Glu Ile Val His Ser Tyr Ala 485 490 495
- Ala Ala Asp Glu Met Val Gly Leu Ser Leu Phe Asp Gly Ala Asn Asp 500 505 510
- Cys Tyr Phe His Thr Gly Lys Arg Gly His His Lys Phe Trp Gly Thr 515 520 525
- Arg Met Phe Lys Tyr Gly Asp Leu Asp Val Leu His Phe Leu Leu Ser 530 535 540
- Asn Leu Asn Trp Trp Val Glu Glu Tyr His Val Asp Gly Phe His Phe 545 550 555 560
- His Ser Leu Ser Ser Met Leu Tyr Thr His Asn Gly Phe Ala Ser Phe 565 570 575
- Thr Gly Asp Met Asp Glu Tyr Cys Asn Gln Tyr Val Asp Lys Glu Ala 580 585 590
- Leu Leu Tyr Leu Ile Leu Ala Asn Glu Val Leu His Ala Leu His Pro 595 600 605
- Asn Val Ile Thr Ile Ala Glu Asp Ala Thr Leu Tyr Pro Gly Leu Cys 610 615 620
- Asp Pro Thr Ser Gln Gly Gly Leu Gly Phe Asp Tyr Phe Ala Asn Leu 625 630 635 640
- Ser Ala Ser Glu Met Trp Leu Ala Leu Leu Glu Asn Thr Pro Asp His 645 650 655
- Glu Trp Cys Met Ser Lys Ile Val Ser Thr Leu Val Gly Asp Arg Gln 660 665 670
- Asn Thr Asp Lys Met Leu Leu Tyr Ala Glu Asn His Asn Gln Ser Ile 675 680 685
- Ser Gly Gly Arg Ser Phe Ala Glu Ile Leu Ile Gly Asn Ser Leu Gly 690 695 700
- Lys Ser Ser Ile Ser Gln Glu Ser Leu Leu Arg Gly Cys Ser Leu His 705 710 715 720
- Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Ser Thr Ile Gly Gly His Ala Tyr Leu 725 730 735

- Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Lys Arg Val Glu Phe Pro 740 745 750
- Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp 755 760 765
- Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Gly
 770 780
- Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala 785 790 795 800
- Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815
- Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830
- Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845
- Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 860
 - Gln Asn Ile Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880
 - Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

FADED TEXT OR DRAWING

BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

SKEWED/SLANTED IMAGES

COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

GRAY SCALE DOCUMENTS

LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

☐ OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.